

RIVM rapport 607220 004

**Huidige mogelijkheden en inzichten voor  
implementatie van metaalbiobeschikbaarheid  
in de risicobeoordeling van landbodems**

W.J.G.M. Peijnenburg, D.T. Jager, L. Posthuma,  
D.T.H.M. Sijm

Maart 2001

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van Directoraat-Generaal Milieubeheer, Directie Stoffen, Afvalstoffen en Straling van het Ministerie voor Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer (VROM) in het kader van de projecten 607220 (Onderbouwing beleid metalen) en 601501 (Normstelling stoffen).

## **Abstract**

Currently, total concentrations of metals in soil, normalised on organic matter and clay content, serve as the basis for setting environmental standards and for risk assessment. Metals, however, are naturally occurring compounds and some of them are essential for survival of organisms. These aspects are directly related to the effects of metals in ecosystems, and should explicitly be taken into account in risk assessment procedures for metals that usually operate through total concentrations. Thereupon, the aspect of bioavailability has insufficiently been taken into account in current methodologies for risk assessment. Recently, the insight has increased in the chemical and biological processes that jointly determine the availability of metals for the biota that comprise the ecosystems. In this report a review is given of the current scientific possibilities for taking differences in bioavailability of heavy metals into account in future risk assessment and standard setting. It is concluded that there are indeed such possibilities. Currently, however, lack of suited data and insights hinder the development of a modified system for risk assessment and standard setting that is 'better' capable of predicting actual effects in soil ecosystems than current methodologies. A general concept is being presented that might serve as a basis for the modified system. Within the concept it is assumed that adverse effects will occur only when a species-, soil- and metal-specific critical value is exceeded. A new system of risk assessment could be based upon two sets of toxicity data: one dataset for species that are exposed via the pore water, and one set for species for which uptake via the solid phase is the dominant uptake route. Nevertheless, both risk assessment and standard setting could in the new system still primarily be based upon total metal concentrations in the soil solid phase. At present, there appear to be insufficient data and well-defined conceptual frameworks to allow for implementation of a modified system. In the report a prioritisation of additional research needs is therefore included.

## Samenvatting

Metalen komen van nature voor in het milieu en sommige zijn essentieel voor organismen. Omdat deze aspecten direct zijn gerelateerd aan de effecten van metalen in ecosystemen, zou er eigenlijk rekening mee moeten worden gehouden bij de normstelling van metalen. Daarnaast is het aspect biobeschikbaarheid nog onvoldoende verwerkt in de huidige methodiek voor risicobeoordeling, die veelal gebaseerd is op totaalconcentraties. In de afgelopen jaren is meer inzicht verkregen in de chemische en biologische processen die tezamen bepalend zijn voor de beschikbaarheid van metalen voor de biota die tezamen een ecosysteem vormen. In dit rapport wordt een overzicht gegeven van de huidige mogelijkheden om bij de risicobeoordeling c.q. normstelling van zware metalen in de bodem expliciet rekening te houden met verschillen in hun biobeschikbaarheid.

Geconcludeerd wordt dat er inderdaad mogelijkheden zijn om in de toekomst bij risicobeoordeling/normstelling meer dan nu het geval is, rekening te houden met verschillen in biobeschikbaarheid. Op dit moment ontbreekt het echter nog aan voldoende gegevens en inzichten (met name met betrekking tot de relatie tussen metaalspecies en opname en effecten voor een breed scala aan bodem- en waterbodemorganismen) om een gemodificeerd systeem van generieke normstelling te ontwikkelen, dat 'beter' dan de huidige methodiek in staat is om daadwerkelijk optredende effecten van metalen in bodemecosystemen te kwantificeren. Wel zijn er mogelijkheden om bij het inschatten van locatiespecifieke risico's rekening te houden met verschillen in biobeschikbaarheid. Een algemeen concept wordt gepresenteerd dat als basis voor een nieuw systeem van risicobeoordeling/normstelling zou kunnen dienen. Het concept gaat er vanuit dat effecten pas optreden nadat een organisme- en metaalspecifieke drempelwaarde is overschreden. Een nieuw systeem van risicobeoordeling zou gebaseerd kunnen zijn op twee sets van toxiciteitsdata: een dataset voor organismen die via het poriewater worden blootgesteld en een set voor organismen die metalen via de vaste fase opnemen. Voor de praktijk van normstelling/risicobeoordeling zou deze tweedeling desalniettemin inhouden dat zowel risicobeoordeling als normstelling primair gebaseerd zouden kunnen blijven op totaalgehalten in de vaste fase. Essentieel is dat het nieuwe systeem van risicobeoordeling 'beter' is dan het huidige, gebaseerd op totaalgehalten. Gelet op het gebrek aan gegevens en goed onderbouwde concepten, is in het rapport een prioritering opgenomen van benodigd aanvullend onderzoek.

# Inhoud

<b>1. INLEIDING .....</b>	<b>5</b>
1.1 ALGEMEEN .....	5
1.2 DOELSTELLING EN WERKWIJZE.....	7
<b>2. BIOBESCHIKBAARHEID ZWARE METALEN IN LANDBODEMS .....</b>	<b>9</b>
2.1 ALGEMEEN BIOBESCHIKBAARHEIDSCONCEPT.....	9
2.2 METAALPARTITIE: FYSISCH-CHEMISCHE BESCHIKBAARHEID VAN METALEN .....	13
2.3 BIOBESCHIKBAARHEID VAN METALEN: ORGANISME-SPECIFIEKE FACTOREN.....	19
2.4 TOXICOLOGISCH BIOBESCHIKBAARHEID VAN METALEN.....	25
<b>3. EVALUATIE/VOORUITBLIK RICHTING NORMSTELLING/RISICOBEOORDELING.....</b>	<b>28</b>
<b>4. CONCLUSIE: MOGELIJKHEDEN VOOR IMPLEMENTATIE BIOBESCHIKBAARHEID IN RISICOBEOORDELING LANDBODEMS.....</b>	<b>32</b>
<b>LITERATUUR.....</b>	<b>37</b>
<b>BIJLAGE 1: VERZENDLIJST .....</b>	<b>42</b>

# 1. Inleiding

## 1.1 Algemeen

In het project 'Normstelling Stoffen' worden op basis van ecotoxicologische gegevens Maximaal Toelaatbare Risiconiveaus (MTR's) en Verwaarloosbare Risiconiveaus (VR's) afgeleid voor de compartimenten bodem, water en lucht. Voor metalen zijn belangrijke aspecten bij het vaststellen van milieukwaliteitsnormen:

- Dat zij van nature voorkomen in het milieu
- Dat sommigen ervan essentieel zijn voor het voortbestaan van organismen
- Dat de biologische beschikbaarheid van het metaal sterk afhangt van lokale substraateigenschappen.

Deze aspecten zijn direct bepalend voor de effecten van die stof in het milieu en daarom zou er eigenlijk rekening mee gehouden moeten worden bij de normstelling van metalen.

Milieukwaliteitsnormen voor zware metalen in het bodemcompartiment (afgeleid aan de hand van ecotoxicologische risiconiveaus) zijn op dit moment gebaseerd op totaalgehalten [1,2]. Hierbij wordt gecorrigeerd voor het lutum- en organisch koolstofgehalte van de bodem. De gerapporteerde concentratie in een ecotoxiciteitstoets wordt omgerekend naar standaardbodem, waarbij impliciet een gelijke beschikbaarheid in de grond gebruikt in de ecotoxiciteitstoets en in veldbodem verondersteld wordt. Voor de toetsing aan de norm wordt de gemeten concentratie omgerekend naar standaardbodem, waarbij opnieuw impliciet wordt gegaan van een gelijke beschikbaarheid in de laboratorium- en de veldsituatie. De omrekeningsfactoren zijn gebaseerd op de resultaten van een studie die zich richtte op het vaststellen van achtergrondgehalten van zware metalen in het bodemcompartiment [3]. Deze correctie wordt wel eens ten onrechte gezien als een correctie voor verschillen in beschikbaarheid van de metalen. De gevolgde procedure leidt er dan ook toe dat in een aantal gevallen normen worden afgeleid die géén relatie zouden hebben met daadwerkelijk optredende effecten in ecosystemen, of die zodanig gesteld zijn dat ze onder het lokale achtergrondgehalte liggen.

Het niet meenemen van verschillen in biobeschikbaarheid van zware metalen tussen niet alleen bodems onderling (zowel voor wat betreft verschillen in biobeschikbaarheid tussen verschillende bodems c.q. bodemtypes, als ook verschillen in biobeschikbaarheid tussen verontreinigde en natuurlijke bodems), maar ook tussen de veld- en de labsituatie (dit laatste

betreft de condities waaronder de meeste toxiciteitsexperimenten en fysisch-chemische bepalingen worden uitgevoerd), is gesuggereerd als zijnde de belangrijkste oorzaak van de gesignaleerde problemen bij de normstelling van zware metalen.

Daarnaast is het van belang om rekening te houden met de waarneming dat de biobeschikbare fractie van organisme tot organisme kan verschillen. Dit is onder meer afhankelijk van de wijze waarop het desbetreffende organisme metalen opneemt en van de wijze waarop het in staat is om de opname en/of eliminatie van zware metalen te reguleren, dan wel of het in staat is om de metalen in inerte vorm in het lichaam op te slaan of op een andere wijze te detoxificeren. Met name het aspect van regulatie van interne metaalgehalten is een onderwerp dat in de toekomst nadere aandacht zal krijgen. Dit onder andere naar aanleiding van het rapport van de Gezondheidsraad over zink [4] en de momenteel over dit onderwerp lopende discussies over hoe om te gaan met essentiële elementen in normstelling. In 1999 is het kader van de lopende discussies onder andere een workshop ‘Onderzoek naar essentiële metalen (zoals zink en koper) ten behoeve van de afleiding van milieukwaliteitsnormen in Nederland’ georganiseerd. Deze workshop had tot doel om een overzicht te verschaffen van de diverse aspecten die een onderzoeksprogramma moet bevatten om over enkele jaren te komen tot een normstelling voor essentiële metalen, waar alle betrokken partijen vanuit wetenschappelijk oogpunt achter kunnen staan. Een verslag van de workshop is door Sijm et al. opgesteld [5].

Voor DGM/SAS was bovenstaande aanleiding om een onderzoek op te dragen met als centrale vragen:

- Hoe zouden we in de toekomst bij de beoordeling van de risico's van (bodem)verontreiniging met zware metalen rekening kunnen houden met de biobeschikbaarheid, dan wel met *verschillen* in biobeschikbaarheid, van deze zware metalen?
- Hoe zouden we hierbij rekening kunnen houden met essentiële metalen die nodig zijn voor bodemorganismen?

Voor het beantwoorden van de tweede centrale vraag is de werkgroep ‘Vervolgonderzoek normstelling Essentiële Metalen’ (VEM) opgericht. In opdracht van deze werkgroep is onlangs door Slijkerman et al. [6] een conceptueel kader voor de toekomstige normstelling van essentiële metalen uitgebracht. In het onderhavige rapport is de nadruk gelegd op de wetenschappelijke visie op de eerste vraag: het compileren van de huidige inzichten aangaande biobeschikbaarheid zware metalen en het inventariseren van de mogelijkheden om

het aspect van biobeschikbaarheid te incorporeren in de methodieken van normstelling en actuele risicobeoordeling.

## 1.2 Doelstelling en werkwijze

Met dit rapport wordt beoogd om aan te geven welke mogelijkheden er momenteel voorhanden zijn voor het meenemen van biobeschikbaarheid:

1. In de normstelling van metalen in landbodems
2. Bij de locatiespecifieke risicobeoordeling van met metalen verontreinigde landbodems.

Om deze doelstellingen te bereiken is gewerkt met resultaten van diverse onderzoeksinstituten. Naast de resultaten van onderzoek dat door het RIVM is uitgevoerd, zal gebruik gemaakt worden van studies die in opdracht van het Directoraat-Generaal Milieubeheer, Directie Stoffen, Veiligheid en Straling (thans Stoffen, Afvalstoffen en Straling) van het Ministerie voor Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer (VROM), en het Centrum voor Stoffen en Risico's (CSR) van het RIVM zijn uitgevoerd door onderzoekers van WL/Delft Hydraulics, AB-DLO (thans Alterra) en Universiteit van Wageningen [7,8], en Vrije Universiteit Amsterdam/Instituut voor Milieuvraagstukken [9] naar respectievelijk de chemische en biologische (opnameroutes) aspecten van biobeschikbaarheid. Er wordt uitgegaan van de hypothese dat bodemorganismen voornamelijk via het poriewater aan metalen worden blootgesteld. In de eerstgenoemde studie is de nadruk gelegd op het ontwikkelen van modellen en meettechnieken voor de actueel (vrije metaal ion) en potentieel beschikbare metaalfracties in aërobe landbodems. In de tweede studie is middels literatuuronderzoek nagegaan in hoeverre de uitgangshypothese van metaalopname door bodemorganismen vanuit het poriewater valide is. In beide studies wordt expliciet rekening gehouden met de invloed van bodemeigenschappen op de chemische beschikbaarheid van metalen en de opname van deze stoffen door zowel dieren als planten.

Effecten van metalen op organismen zijn het gevolg van een reeks van processen. Doordat dit gegeven niet altijd wordt onderkend, blijken er in de praktijk verschillende definities van biobeschikbaarheid te worden gehanteerd. Bij de studies die in dit rapport worden beschreven, wordt uitgegaan van een model voor biobeschikbaarheid dat opgebouwd is uit een drietal kernprocessen die betrekking hebben op respectievelijk de 'leverende' (milieubepaalde chemische beschikbaarheid), de 'vragende' (biologische beschikbaarheid) en de toxicologische (toxicologische biobeschikbaarheid) kant van biobeschikbaarheid. Hierbij

dient expliciet te worden aangetekend dat het model en de inspanningen die gedaan zijn om het model te verifiëren en te kwantificeren, als primair doel hebben om verschillen in biobeschikbaarheid tussen verschillende gronden te kwantificeren ten behoeve van mogelijke toepassing in normstelling/risicobeoordeling. De aan het beschikbaarheidsmodel ten grondslag liggende concepten dienen enkel als richtlijn voor invulling van dit primaire doel en invulling van de concepten is geen doel op zichzelf. In plaats daarvan wordt beoogd om op basis van kennis van elk van de genoemde deelprocessen, een directe link te leggen tussen beschikbare externe metaalgehalten en effecten op organismen. In dit rapport zal de nadruk liggen op de chemische en biologische beschikbaarheid van metalen. Tot op heden is relatief weinig aandacht besteed aan de toxicologische biobeschikbaarheid. De hierboven genoemde studies van WL/Delft Hydraulics et al. en VU/IvM hebben betrekking op respectievelijk de chemische en de biologische beschikbaarheid van stoffen. In hoofdstuk 2 van dit rapport wordt allereerst in algemene zin ingegaan op het biobeschikbaarheidsconcept dat de basis vormt voor dit rapport. Vervolgens wordt in hoofdstuk 2 voor elk deelproces de huidige stand van zaken besproken. In hoofdstuk 3 worden de mogelijkheden besproken om de huidige kennis te operationaliseren ten behoeve van beleidsdoeleinden. Tevens worden de belangrijkste kennisiaten geformuleerd. De belangrijkste conclusies en aanbevelingen zijn verwoord in hoofdstuk 4. De nul-hypothesen bij het onderzoek waren enerzijds de stelling dat opname van metalen door bodemorganismen en planten gerelateerd zijn aan de activiteit van het vrije-metaal-ion in het poriewater, terwijl er anderzijds vanuit werd gegaan dat effecten van metalen op organismen gerelateerd zijn aan de interne metaalgehalten (het zogenaamde critical-body-burden-concept).

Opgemerkt dient te worden dat dit rapport enkel betrekking heeft op aërobe landbodems: anaërobe bodems, sedimenten en water worden niet in de beschouwingen betrokken. Een overzicht van de kennis over de risico's van metalen in de waterbodem van Nederlandse wateren is recent opgesteld door Van Steenwijk et al. [10].



## 2. Biobeschikbaarheid zware metalen in landbodems

### 2.1 Algemeen biobeschikbaarheidsconcept

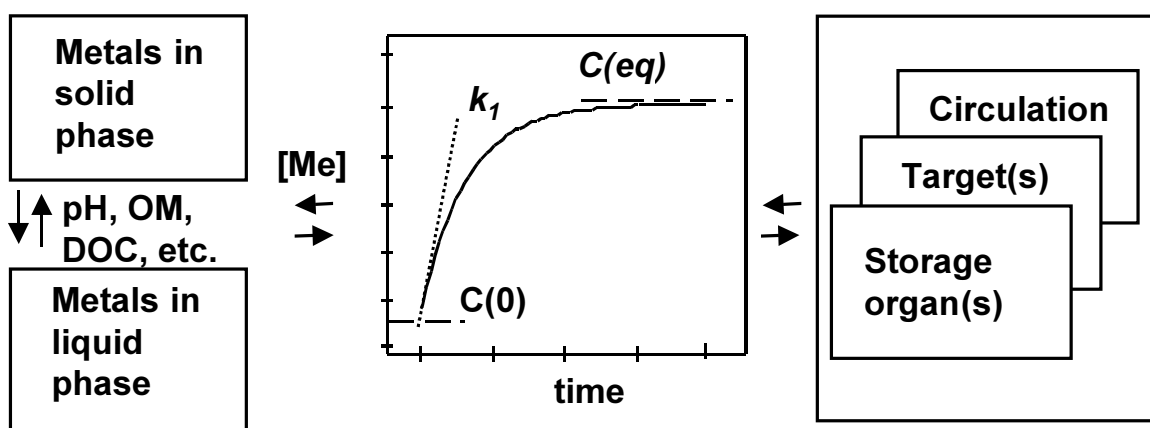
Het fysisch-chemisch gedrag van zware metalen in bodems is de resultante van de interacties die zware metalen hebben met verschillende sorptiefasen, complexerende liganden en biota. De speciatie van zware metalen in bodems wordt voornamelijk bepaald door pH, redox-toestand, ionsterkte, de aanwezigheid van sorptiefasen, en de beschikbaarheid van complexerende opgeloste liganden in het poriewater. Tot de sorptiefasen behoren met name kleimineralen, (hydr)oxiden van mangaan en ijzer, en organisch stof. De complexerende liganden kunnen zowel van organische oorsprong zijn, zoals fulvine- en humuszuren, als een anorganisch karakter hebben (onder andere chloride, sulfide, fosfaat, etc.). Biota speelt een bijzondere rol in dit geheel. Zij kunnen metalen adsorberen aan hun buitenkant, opnemen via poriewater, de vaste fase en via voedsel, maar ook liganden uitscheiden die de metalen buiten het organisme binden, onder andere om mogelijke effecten van metalen te minimaliseren. Daarnaast spelen micro-organismen een belangrijke rol bij de omzetting van organische stof en kunnen zij een katalyserende werking hebben in de (secundaire) redox reacties in de waterbodem, zoals oxidatie van gereduceerde bestanddelen.

Toxische effecten van metalen op bodemorganismen zijn moeilijk voorspelbaar. In zijn algemeenheid komt dit doordat toxiciteit vaak optreedt als uitvloeisel van een reeks van processen, die ieder op zich van een groot aantal uiteenlopende factoren afhankelijk kunnen zijn. Om dit te kunnen operationaliseren is door Hamelink et al. [11] het drie-fasen concept voor biobeschikbaarheid ontwikkeld, dat door Posthuma et al. [12] is uitgebreid met de nadruk op de dynamiek. In het drie-fasen concept wordt er van uitgegaan dat effecten pas zullen optreden nadat het interne metaalgehalte een organisme- en metaalspecifieke drempelwaarde (critical body burden) heeft overschreden. Hoewel bekend is dat het drie-fasen concept van biobeschikbaarheid niet in alle gevallen opgaat, heeft het dynamische drie-fasen concept in de afgelopen periode centraal gestaan in het biobeschikbaarheidsonderzoek dat in dit rapport wordt beschreven. De drie kernprocessen die tezamen het concept voor biobeschikbaarheid vormen, zijn weergegeven in Figuur 1:

1. De eerste fase van het concept wordt gevormd door de milieu-bepaalde beschikbaarheid van het metaal voor opname door bodemorganismen. In deze eerste fase spelen enkel fysisch-chemische factoren een rol. In Figuur 1 is fysisch-chemische beschikbaarheid

schematisch weergegeven in de vorm van de partitie van een metaal over de vaste fase van de bodem en het poriewater (linkerzijde Figuur 1). Zoals schematisch aangegeven, is deze partitie in principe afhankelijk van een groot aantal bodemeigenschappen (pH blijkt vaak de meest sturende bodemeigenschap in deze). Ten gevolge van de dynamische partitieprocessen tussen de vaste fase en het poriewater zullen zich in de bodem evenwichten instellen.

2. In de tweede stap van het dynamische drie-fasen concept speelt de biobeschikbaarheid een belangrijke rol. Als uitvloeisel van de onder 1 genoemde evenwichten, zal zich een dynamisch evenwicht instellen tussen enerzijds de metalen in het bodem-poriewater systeem, en anderzijds de interne gehalten in het organisme. De ligging van dit dynamische evenwicht is afhankelijk van zowel externe als interne (organisme-specifieke) factoren. Een belangrijke organisme-specifiek aspect in deze, betreft de wijze waarop organismen metalen opnemen (voedsel – poriewater – ingestie bodemdeeltjes). In het midden van Figuur 1 is de biobeschikbaarheid weergegeven in de vorm van toxicokinetische opnamekarakteristieken (opnamesnelheidsconstante,  $k_1$ , en interne evenwichtshalte,  $C(eq)$ ), daarnaast speelt eliminatie een rol.
3. Het derde aspect van het biobeschikbaarheidsconcept wordt gevormd door interne distributieprocessen, transport naar specifieke targets voor toxiciteit, eventuele inerte opslag in specifieke organen en andere detoxificatiemechanismen. Dit is aan de rechterkant van Figuur 1 weergegeven. Het toxicologische biobeschikbaarheidsconcept gaat er vanuit dat daadwerkelijke toxische effecten pas zullen optreden na overschrijding van een kritisch intern metaalgehalte in een of ander orgaan/organel.



Figuur 1. Schematische weergave van de kernprocessen van het biobeschikbaarheidsconcept.

Het spreekt voor zich dat het hierboven gepresenteerde biobeschikbaarheidsconcept in deze vorm niet toepasbaar is voor normstelling/risicobeoordeling. Zoals aangegeven door Peijnenburg et al. [13] is de kern van het concept de werkhypothese dat het mogelijk is om op basis van (relatief eenvoudig te meten) totaalgehalten van metalen in hetzij de vaste fase, hetzij het poriewater en enkele cruciale bodemeigenschappen, de daadwerkelijk optredende effecten in bodemorganismen en planten te voorspellen omdat de 2e en 3e fase van het concept slechts een beperkte rol spelen. Voor de praktijk van normstelling/locatiespecifieke risicobeoordeling zou het nodig zijn om te beschikken over toxiciteitsdata op basis van de biobeschikbare metaalfractie, rekening houdend met de invloed van milieueigenschappen op de metaalopname en –toxiciteit. Extrapolatie van bijvoorbeeld laboratoriumdata naar velddata zou dan direct kunnen geschieden op basis van het kwantificeren van de desbetreffende metaalfracties en zou kunnen leiden tot een gegeneraliseerde beschrijving van organisme- en bodemafhankelijke *beschikbaarheidsverschillen* (labtest/veld). Uitgaande van de veronderstelling dat pH de belangrijkste factor is die metaalpartitie moduleert, en de veronderstelling dat bodemvertebraten via het poriewater worden blootgesteld, is door McLaughlin nagegaan in hoeverre het op dit moment mogelijk is om toxiciteitsdata van zink voor bodemvertebraten (laboratoriumdata op basis van totaalgehalten aan toegevoegd zink) te normaliseren op zinkgehalten in het poriewater [14]. In tegenstelling tot de verwachting bleek de resulterende set van genormaliseerde EC<sub>50</sub>-data schever verdeeld te zijn (meer spreiding in de EC<sub>50</sub>-data) dan de oorspronkelijke dataset, hetgeen aantoont dat normalisatie op basis van gehalten in het poriewater niet de alomvattende oplossing is. De resultaten van McLaughlin worden bevestigd door vergelijkbare berekeningen voor cadmium [15].

De hierboven geschetste onderliggende processen dienen enkel in de onderzoeksfase te worden gekwantificeerd en zouden na validatie onder realistische veldomstandigheden geen verdere uitwerking behoeven in de dagelijkse praktijk. Deze validatie zou bij voorkeur dienen te geschieden op basis van een vergelijking van in het veld gemeten toxicokinetische accumulatiekarakteristieken en toxiciteit voor een beperkt aantal organismen die van nature in het veld voorkomen, met in het laboratorium (onder veelal ideale fysiologische omstandigheden) aan dezelfde organismen uitgevoerde metingen.

Kwantificering van de in Figuur 1 geschetste deelprocessen vereist dat de volgende modellen en meettechnieken ontwikkeld worden:

- a. Modellen voor het relateren van totaalgehalten van zware metalen in de vaste fase (potentieel beschikbare fractie, te kwantificeren op basis van een nader te bepalen

destructie- of extractiemethodiek) aan de actueel beschikbare metaalfraction. Deze modellen dienen expliciet rekening te houden met de belangrijkste milieufactoren die metaalpartitie beïnvloeden (pH).

- b. Een meetmethode voor het meten van de activiteit van het vrije metaal-ion in oplossing. Dit met als doel: het valideren van de modellen genoemd onder c.
- c. Modellen voor het relateren van de actueel beschikbare metaalfraction aan de activiteit van het vrije metaal-ion in oplossing, danwel modellen voor het relateren van totaalgehalten aan de activiteit van het vrije metaal-ion in oplossing. Dit uitgaande van de nulhypothese dat opname van metalen door organismen gerelateerd is aan de activiteit van het vrije metaal-ion.
- d. Modellen voor het relateren van de beschikbare metaalfraction aan interne metaalgehalten in bodemdieren en planten, expliciet rekening houdend met de invloed van externe milieufactoren op de metaalopname. In het geval dat de nulhypothese opgaat en opname gerelateerd is aan activiteit van het vrije metaal-ion, heeft dit betrekking op modellen waarmee interne metaalgehalten kunnen worden gerelateerd aan deze activiteit.
- e. Toxiciteitsdata voor specifieke organismen en planten op basis van interne metaalgehalten.

Het combineren van de hierboven genoemde modellen maakt het mogelijk om op basis van totaalgehalten in de vaste fase, daadwerkelijk optredende effecten te voorspellen. Hierbij dient aangetekend te worden dat er voorbeelden bekend zijn waaruit blijkt dat er niet altijd een directe relatie is tussen interne metaalgehalten en effecten op organismen/planten [16-19], en waarbij het juist de externe concentratie is die tot toxiciteit leidt. Een voorbeeld hiervan is het optreden van verstikking als gevolg van het neerslaan van aluminiumhydroxiden aan de buitenkant van bijvoorbeeld plantenwortels of vissenkieuwen. Desalniettemin is door van Wensem et al. [20] en door van Straalen [21] aangegeven dat het gebruik van kritische interne lichaamsgehalten kan zorgen voor vermindering van onzekerheden in de procedures van risicobeoordeling/locatiespecifieke normstelling. Hierbij dient nogmaals expliciet te worden aangetekend dat gebruik van het concept van kritische interne lichaamsgehalten bedoeld is als hulpmiddel bij het kwantificeren van de biobeschikbare metaalfractionen. Het concept van kritische interne lichaamsgehalten kan gebruikt worden om op een verantwoorde manier een relatie te kunnen leggen tussen metaalgehalten in hetzij de vaste fase danwel het poriewater en toxische effecten op organismen en/of ecosystemen. Uiteraard valt niet uit te sluiten dat er meerdere concepten zijn die in meer of mindere mate bruikbaar zijn voor het doel van het in dit rapport beschreven onderzoek.

Binnen het project ‘Onderbouwing Beleid Metalen’ is de afgelopen jaren enkel aandacht besteed aan de fysisch-chemische processen die van invloed zijn op de beschikbaarheid van zware metalen voor opname door bodemorganismen, en aan de organisme-specifieke factoren die de daadwerkelijke opname bepalen. Aan toxicologische biobeschikbaarheid is slechts indirect aandacht besteed. In het onderstaande wordt nader ingegaan op de stand van zaken met betrekking tot elk van de in Figuur 1 genoemde deelprocessen.

## **2.2 Metaalpartitie: Fysisch-chemische beschikbaarheid van metalen**

In vergelijking met de milieucompartimenten lucht en water wordt het bodemcompartiment gekenmerkt door een hoge mate van heterogeniteit. Deze heterogeniteit heeft verregaande gevolgen voor het gedrag van metalen in landbodems. Verschillende aanpakken kunnen worden gevolgd voor het kwantificeren van de grootte van de verschillende metaalpools in landbodems en de partitie van metalen tussen deze pools:

- Destructie van de bodemmatrix, veelal ter bepaling van het (semi-)totaalgehalte.
- Extractie van de bodem. Hierdoor wordt veelal een operationeel gedefinieerde metaalpool verkregen die in een aantal gevallen gezien wordt als simulatie van de fractie die in potentie beschikbaar is om door specifieke bodemorganismen/planten te worden opgenomen.
- Directe bepaling van metaalgehaltenes in het poriewater, eventueel na het aan de bodem toevoegen van een mild extractiemiddel. Gestandaardiseerde methodieken zijn hiervoor ontwikkeld, daarnaast zijn methodes beschikbaar voor het meten van de bodemeigenschappen die bepalend zijn voor het gedrag van metalen in landbodems.
- Directe meting van metaalactiviteiten in het poriewater (deze meettechniek moet nog verder worden ontwikkeld). Vaak wordt verondersteld dat dit de actueel beschikbare (de werkelijk opneembare) metaalfractie oplevert.
- Modelleren van de partitie van metalen tussen de verschillende metaalfracties, waarbij expliciet rekening wordt gehouden met de milieufactoren die van directe invloed zijn op metaalpartitie. Hierbij wordt gebruik gemaakt van de hierboven genoemde metaalfracties.

Opgemerkt dient te worden dat de definities van de potentieel en actueel beschikbare fracties niet eenduidig zijn. Zo wordt door De Rooy et al. [8] voorgesteld om de metaalgehaltenes die verkregen worden na extractie met 0.01 M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  te beschouwen als zijnde de fractie die

in potentie door organismen kan worden opgenomen. Het vrije metaal ion wordt hierbij gezien als de actueel beschikbare fractie die daadwerkelijk wordt opgenomen. Deze definities van de potentieel en actueel beschikbare fracties dienen getoetst te worden aan gemeten opnamekarakteristieken van metalen in uiteenlopende bodemorganismen en planten. Een dergelijke toetsing is nog slechts in zeer beperkte mate uitgevoerd (zie ook paragraaf 2.3). De aanbeveling van De Rooy et al. voor de potentieel beschikbare fractie is gebaseerd op het toepassen van 18 verschillende destructie- en extractiemethodes op een 49-tal door het RIVM verzamelde landbodems. Voor zink, cadmium en lood kon een empirisch model ontwikkeld worden waarmee het mogelijk is om de potentieel beschikbare fractie te relateren aan de (gemeten en gemodelleerde) activiteit van het vrije metaal ion. Dit leverde in het geval van 0.01 M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -extractie voor de genoemde metalen de beste modellen op. Voor koper kon geen statistisch significant model ontwikkeld worden. Zoals hierboven al aangegeven is, behalve verbetering van de modellen (vermindering van de huidige onzekerheden van ruwweg een factor 10), ook validatie aan de hand van gemeten accumulatie door bodemorganismen en planten noodzakelijk.

Door De Rooy et al. [8] is verder gewerkt aan de optimalisering van de zogenaamde Wageningen-Donnan-Membraan techniek voor het meten van metaalactiviteiten in poriewater. Alhoewel verdere ontwikkeling van deze techniek noodzakelijk is om hem breder toepasbaar te maken, tonen de tot op heden gepresenteerde resultaten aan dat de methode geschikt is voor het meten van metaalactiviteiten in het voor normstelling/risicobeoordeling relevante concentratiegebied ( $> 10^{-9}$  mol/l in geval van koper). Uit een vergelijking van gemeten en gemodelleerde metaalactiviteiten blijkt verder dat het met de momenteel voor handen zijnde speciatie modellen heel goed mogelijk is om, op basis van de samenstelling van het poriewater en totaal-metaal-gehalten, de metaalactiviteiten in het poriewater te voorspellen. Bij de speciatieberekeningen is gebruik gemaakt van het NICA-model [22] dat geïmplementeerd werd in CHARON [23].

Een relatief eenvoudige methodiek voor het beschrijven van de partitie van metalen tussen de vaste fase en het poriewater, is het gebruik van partitiecoëfficiënten voor het beschrijven van de verdeling van metalen in bodems. Het gebruik van partitiecoëfficiënten veronderstelt impliciet dat er evenwicht bestaat tussen de totaalgehalten aan zware metalen in de vaste fase en in het poriewater. De partitiecoëfficiënt,  $K_p$ , is gedefinieerd als de ratio van beide metaalgehalten:

$$K_p = \frac{[Metaal]_{vaste\ fase}}{[Metaal]_{poriewater}} \quad (l/kg)$$

Modellen die de invloed van de bodem- en poriewatersamenstelling op de  $K_p$  verdisconteren, zijn in potentie geschikt om op basis van eenvoudig te meten totaal-metaalgehalten in de vaste fase, poriewatergehalten te voorspellen. Deze laatste gehalten zijn geschikt voor de berekening van bijvoorbeeld metaalactiviteiten in het poriewater. Door De Groot et al. [24] zijn modellen voor het voorspellen van  $K_p$ -waardes ontwikkeld. In Tabel 1 is voor een 6-tal metalen een voorbeeld van een dergelijk model gegeven.

*Tabel 1. Multivariate regressieformules voor het relateren van log-getransformeerde partitiecoëfficiënten ( $K_p$ ) van Cu, Cr, Ni, Cd, Pb, Zn aan een aantal bodem- en poriewatereigenschappen, zoals afgeleid op basis van een verzameling Nederlandse veldbodems.*

Metaal	Regressievergelijking	Statistische parameters
Cu	$\log K_p = -0.20 + 0.28 * \text{pH}(\text{CaCl}_2) + 0.89 * \log \text{Al-ox} - 0.56 * \log \text{DOC}$	$R^2_{\text{adj}}=0.742$ , n=46, F=45.0, P<0.001
Cr	$\log K_p = 2.16 + 0.25 * \text{pH}(\text{CaCl}_2) + 0.40 * \log \text{CEC}$	$R^2_{\text{adj}}=0.694$ , n=46, F=53.2, P<0.001
Ni	$\log K_p = 0.46 + 0.25 * \text{pH}(\text{CaCl}_2) + 0.41 * \log \text{Al-ox} + 0.22 * \log \text{CEC}$	$R^2_{\text{adj}}=0.712$ , n=44, F=36.4, P<0.001
Cd	$\text{Log } K_p = 1.38 + 0.49 * \text{pH}(\text{CaCl}_2) + 0.80 * \log \text{Al-ox}$	$R^2_{\text{adj}}=0.811$ , n=45, F=95.7, P<0.001
Pb	$\log K_p = -0.13 + 0.48 * \text{pH}(\text{CaCl}_2) + 0.16 * \log \text{Fraction} + 0.73 * \log \text{Al-ox}$	$R^2_{\text{adj}}=0.837$ , n=45, F=76.5, P<0.001
Zn	$\log K_p = -1.07 + 0.51 * \text{pH}(\text{CaCl}_2) + 0.55 * \log \text{Clay} + 0.22 * \log \text{Al-ox}$	$R^2_{\text{adj}}=0.838$ , n=46, F=80.6, P<0.001

Zoals blijkt uit Tabel 1 worden hierbij modellen verkregen die een groot gedeelte van de variantie in de onderliggende partitiedata beschrijven. Nadere beschouwing van de modellen (hier niet verder uitgewerkt) leert echter dat de metaalgehalten in de vaste fase een aanzienlijk grotere spreiding vertonen dan metaalgehalten in het poriewater. Dit heeft als consequentie dat het in de praktijk vaak moeilijk is om met de in Tabel 1 weergegeven modellen metaalgehalten in het poriewater met een voldoende mate van nauwkeurigheid te voorspellen. Om een betere voorspelling van metaalgehalten en vrije metaal-ion activiteiten in het poriewater te verkrijgen, zijn door Otte et al. [25] relaties afgeleid waarmee het in potentie mogelijk is om een directe relatie te leggen tussen enerzijds totaal-metaalgehalten in de vaste fase en anderzijds totaal-metaalgehalten of metaalactiviteiten in het poriewater. Dit betreft zogenaamde Freundlich-isothermen, waarbij het poriewater verkregen is door centrifugeren van de niet-gemodificeerde natuurlijke bodem:

$$X_{\text{totaal}} = 10^p \{ \%OC \}^r \{ \%lutum \}^s (H^+)^m \{ M \}^n$$

In deze vergelijking is  $X_{\text{totaal}}$  ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) het totale metaalgehalte in de vaste fase,  $\{\%OC\}$  is het massapercentage organische koolstof in de vaste fase,  $\{\%lutum\}$  is het massapercentage lutum in de vaste fase,  $(H^+)$  ( $\text{mol.l}^{-1}$ ) is de protonactiviteit in oplossing en  $\{M\}$  ( $\text{mg.l}^{-1}$ ) is de vrije metaalactiviteit ( $M^{2+}$ ) of de totale metaalconcentratie  $[M]$  in oplossing. Partitiecoëfficiënten worden vaak bepaald onder laboratoriumcondities, waarbij normaliter metaal aan de bodem wordt toegevoegd. Vervolgens wordt de metaalpartitie na een relatief korte equilibratieperiode gemeten. In de praktijk blijkt dat adsorptievergelijkingen die gebaseerd zijn op laboratoriumdata, onder identieke milieuomstandigheden, een systematische onderschatting van de werkelijke veldpartitie opleveren. Om een oplossing voor dit probleem te vinden, is door Otte et al. tevens een onderscheid gemaakt tussen een reactieve vaste metaalfase (operationeel gedefinieerd: 0.43 M  $\text{HNO}_3$  extractie) en een inerte vaste fase (totaaldestructie met koningswater). Vervolgens zijn Freundlich-isothermen van het volgende type afgeleid:

$$X_{\text{totaal}} - X_{\text{inert}} = 10^p \{\%OC\}^r \{\%lutum\}^s (H^+)^m (M^{2+})^n$$

Met deze vergelijking wordt een relatie gelegd tussen de reactieve metaalfractie en het metaalgehalte c.q. de metaalactiviteit in het poriewater.

In Tabel 2 is voor een viertal metalen een voorbeeld van dergelijke relaties weergegeven. De hier weergegeven relaties zijn gebaseerd op een uitgebreide verzameling van bodems die de belangrijkste Nederlandse bodemtypen omvat.

Tabel 2: Voorbeeld van adsorptievergelijkingen voor Cd, Cu, Pb en Zn, waarbij het reactief metaalgehalte is gecorreleerd aan de vrije metaal activiteit.

Metaal	Regressiecoëfficiënten					$R^2$	N
	p	R	s	m	n		
Cd	-1.688	1.162	0.279	-0.410	0.731	0.428	256
Cu	-1.604	0.960	0.047	-0.404	0.135	0.586	352
Pb	-0.129	0.707	0.316	-0.284	0.171	0.517	235
Zn	-2.032	0.880	0.492	-0.536	0.700	0.680	271

Donkere cellen: niet significant bij  $p=0.05$

Zoals blijkt uit Tabel 2 kan met behulp van de door Otte et al. ontwikkelde Freundlich-isothermen slechts ongeveer 50 % van de variantie in de onderliggende data worden beschreven. Voor toepassing binnen normstelling/locatiespecifieke risicobeoordeling dient verdere ontwikkeling van de modellen plaats te vinden.



De hierboven weergegeven aanpakken van het bestuderen van het gedrag van metalen in landbodems, hebben de statistisch-empirische aanpak gemeen. In geen van de studies wordt aandacht besteed aan de kinetische aspecten van metaalsorptie en -desorptie. De kinetiek van sorptieprocessen kan met name van belang zijn bij (laboratorium)studies waarbij in het algemeen gewerkt wordt met relatief korte equilibratietijden. Als gevolg hiervan valt niet uit te sluiten dat hierdoor een hogere beschikbaarheid van het toegevoegde metaal wordt verkregen dan in veldgronden met een vergelijkbare samenstelling. Hierdoor zouden toxiciteitstoetsen (waarbij veelal ook gewerkt wordt met toevoegingen van metaalzouten, waarna na een relatief korte equilibratieperiode de toxiciteitstoets wordt uitgevoerd) wel eens een overschatting van de daadwerkelijke risico's in het veld kunnen opleveren bij dezelfde bodemeigenschappen. Met name in het geval van het beoordelen van lokale risico's is kennis van de equilibratieperiode van belang, aangezien deze periode (en daarmee de mate van overschatting van risico's) sterk kan variëren.

Daarnaast is onder andere door Van Tilborg [26] aangegeven dat, als gevolg van zeer langzaam verlopende verouderingsprocessen, de beschikbaarheid van metalen op geochemische tijdschaal wel eens veel lager kan zijn dan momenteel wordt verondersteld. Op dit moment zijn er nog onvoldoende gegevens voorhanden om deze hypothese afdoende te toetsen. Gegevens van McGrath et al. [27] tonen aan dat extraheerbare zinkgehalten na bemesten van landbodems met zuiveringsslib toenemen als gevolg van langzame pH-daling van de bodems. Andere studies tonen daarentegen aan dat extraheerbare zinkgehalten in de loop der tijd juist langzaam toenemen [28-30].

De kinetiek van desorptie speelt een rol bij situaties waarbij het bodemevenwicht wordt verstoord door opname van metalen of door manipulatie van het micromilieu (vaak bedoeld om optimale omstandigheden voor metaalopname te verkrijgen). Op dit moment is het nog niet goed mogelijk om afdoende rekening te houden met de desorptieprocessen die zich in de bodem afspelen als gevolg van deze passieve en actieve (opname)processen.

Samenvattend kan gesteld worden dat:

1. Een scala aan (relatief eenvoudig uit te voeren) extractie- en destructietechnieken ontwikkeld is voor het bepalen van metaalgehalten in de vaste bodemfase. Daarnaast zijn er methodieken beschikbaar voor het bepalen van (totaal-)metaalgehalten in het poriewater en kunnen de belangrijkste bodemeigenschappen die het gedrag van metalen bepalen, op eenvoudige wijze worden bepaald. Onduidelijk is nog in hoeverre de met behulp van de

extracties en destructies verkregen metaalfracties ook daadwerkelijk biobeschikbaar zijn voor bodemorganismen en planten.

2. Het op dit moment vrij goed mogelijk is om metaalactiviteiten in poriewaters te meten én te modelleren. Verdere uitbouw van de modellen en meettechnieken is noodzakelijk om ze beter geschikt te maken voor het doel van validatie van de onderliggende processen in het hierboven gepresenteerde 3-fasen biobeschikbaarheidsconcept.
3. De empirische modellen die op dit moment ontwikkeld zijn voor het voorspellen van metaalactiviteiten en metaalgehalten in het poriewater (inclusief de huidige Freundlich-isothermen en modellen voor het voorspellen van partiticoëfficiënten), op basis van relatief eenvoudig uit te voeren bodemextracties en –destructies, verdere verbetering behoeven. Dit betreft onder andere de vermindering van de intrinsieke onzekerheden in de modellen.
4. De sorptie van metalen zoals die normaliter onder labomstandigheden gemeten wordt (toevoegen van metaalzouten, waarna partitie na een vervolgens relatief korte equilibratietijd wordt gemeten) een onderschatting geeft van de mate van sorptie in *vergelijkbare* veldgronden. Dit kan als consequentie hebben dat toxiciteitstoetsen (die veelal ook na een korte equilibratietijd van toegevoegde metaalzouten worden uitgevoerd) een overschatting geven van de daadwerkelijk optredende effecten in vergelijkbare veldbodems.
5. Meer kennis nodig is aangaande de kinetiek/dynamiek van metaalsorptie- en –desorptie in landbodems, inclusief de processen die ten grondslag liggen aan het begrip ‘veroudering’.

Gelet op de relatie tussen enerzijds metaalpartitie en anderzijds opname door en/of effecten in bodemorganismen, zou verder onderzoek met betrekking tot de chemische aspecten van biobeschikbaarheid zich vooral moeten richten op de aspecten 3, 4 en 5 (bijvoorkeur gepaard gaande met opnamestudies (zie volgende paragraaf) ter validatie van de beoogde basisconcepten voor dagelijks gebruik in normstelling/risicobeoordeling. Onderzoek naar de items 4 en 5 zou de hoogste prioriteit moeten hebben: aangezien deze items nauw met elkaar zijn verbonden zouden ze gezamenlijk aangepakt dienen te worden. Onderzoek naar item 2 (metaalactiviteiten) lijkt minder prioritair daar een eenduidige link tussen metaalactiviteiten en opname/effecten nog niet voor een breed scala aan bodemorganismen en planten is aangetoond.

## 2.3 Biobeschikbaarheid van metalen: organisme-specifieke factoren

Hoewel normstelling gebaseerd is op totaalgehalten van zware metalen in de bodem, wordt er bij de risicobeoordeling vanuit gegaan dat blootstelling van bodemorganismen aan microverontreinigingen voornamelijk plaats vindt via het poriewater. Op basis van de aanname dat er sprake is van een thermodynamisch evenwicht waarbij metalen zich verdelen tussen de verschillende fasen die in het systeem aanwezig zijn (vaste fase, (porie)water, opgelost koolstof, organismen, etc.) is de zogenaamde evenwichtspartitietheorie (EPT) ontwikkeld. Met de EPT kunnen ecotoxicologische risiconiveaus voor stoffen in bodem worden berekend op basis van aquatische toxiciteitsdata (omdat er voor de meeste zware metalen voldoende bodem-toxiciteitsdata in de literatuur zijn gerapporteerd, behoeft de EPT niet gebruikt te worden voor het afleiden van bodemnormen voor een aantal metalen). Hierbij dient wel aangetekend te worden dat er in het veld normaliter geen sprake is van een volledige evenwichtssituatie, waardoor extrapolatie van bevindingen op basis van de EPT naar het veld problemen kan opleveren. Indien de hypothese van poriewateropname juist is, dan zou het aanbeveling verdienen om ook bij de normstelling expliciet rekening te houden met blootstelling via het poriewater. Door Belfroid en van Gestel is een overzicht opgesteld van de voornaamste blootstellingsroutes voor organische stoffen en metalen voor terrestrische invertebraten [9]. Uit dit overzicht blijkt dat terrestrische organismen in principe via verschillende routes kunnen worden blootgesteld aan in de bodem aanwezige stoffen: contact met het poriewater, voedsel, ingestie van bodemdeeltjes, opname via inademing van bodemlucht. Een onderverdeling kan worden gemaakt in zogenaamde zachthuidige (protozoën, nematoden, regenwormen, enchytraeën en sommige insectenlarven) en hardhuidige organismen (arthropoden, zoals spinnen en hooiwagens, mijten, insecten, pissebedden en enkele op het land levende kreeftachtigen). Kwantitatief gezien bestaat er onder ecologen geen overeenstemming over het aantal soorten bodemorganismen dat onder de eerste dan wel onder de tweede categorie valt. Door J. Hendriks (RIZA, persoonlijke mededeling) en R. Kraay (RITOX, persoonlijke mededeling) wordt ingeschat dat de verhouding 'aantal zachthuidige soorten' : 'aantal hardhuidige soorten' in de orde van grootte van 75 : 25 ligt. Een inventarisatie van in Nederland voorkomende bodemorganismen zou hier uitsluitsel over kunnen geven. Voor alle soorten is opname via voedsel mogelijk, terwijl voor zachthuidige organismen de huid kwantitatief gezien de voornaamste route zou zijn (opname van metalen vanuit het poriewater). Hardhuidige organismen kunnen stoffen op verschillende manieren opnemen. Alhoewel het aantal opnamestudies beperkt is en er soms tegenstrijdige resultaten

worden gerapporteerd, blijkt uit labexperimenten dat de opname van metalen vanuit voer zelden groter is dan 10 %. In de veldsituatie is deze bijdrage echter niet te kwantificeren. Opname- en toxiciteitsexperimenten die in het laboratorium zijn uitgevoerd, laten volgens Belfroid en van Gestel geen eenduidig verband met één of meerdere metaalpools zien. Dit onderstreept de complexe invloed van abiotische factoren op de toxiciteit van metalen voor bodemevertebraten. Naast het aantal soorten is ook het aantal organismen (individuen) dat via elk van de genoemde opnameroutes wordt blootgesteld van belang. Ook hierover zijn nog geen goed gedocumenteerde gegevens voorhanden.

De invloed van abiotische factoren (bodemeigenschappen en metaalfracties) op de opname en eliminatie van metalen door een aantal zacht- en hardhuidige bodemorganismen en door planten, is recent door het RIVM onderzocht [31-36]. Het onderzoek is uitgevoerd met behulp van een aantal uitgebreid gekarakteriseerde veldgronden met sterk uiteenlopende bodemeigenschappen en uiteenlopende metaalgehalten (zowel qua totaalgehalten, extraheerbare gehalten en poriewaterconcentraties, alsook qua activiteit van het vrije metaalion in het poriewater) [24, 37]. Naast de karakteristieke opname- en eliminatieconstanten die kenmerkend zijn voor de actueel opgenomen metaalfractie, is in deze dynamische studies met name de relatie tussen enerzijds interne evenwichtgehalten van de metalen in de organismen en in de planten, en anderzijds bodemeigenschappen en metaal pools gekwantificeerd. Het onderzoek had primair betrekking op de metalen Cd, Cu, Pb en Zn, daarnaast is in een aantal van de studies ook aandacht besteed aan de opname van As, Cr en Ni.

Een van de belangrijkste bevindingen was dat er een duidelijk verschil in opnamekarakteristiek bestaat tussen essentiële (met name koper) en niet-essentiële metalen. Daarnaast werd een duidelijk onderscheid gevonden tussen zachthuidige en (semi-)hardhuidige organismen. Tenslotte werd duidelijk dat de accumulatie van organismen verschilt tussen bodems waaraan metaalzouten zijn toegevoegd (zoals vaak wordt gedaan in laboratorium-toxiciteitsproeven) en bodems waarbij dit niet is gedaan. Samenvattend:

- De interne gehalten van de essentiële metalen zink en bovenal koper werden in de meeste gevallen actief door de organismen op een min of meer vast niveau gereguleerd, en er werd in het geval van koper dan ook voor geen enkel van de onderzochte bodemorganismen en planten een relatie gevonden tussen enerzijds externe koper pools of bodemeigenschappen en anderzijds de interne kopergehalten. Duidelijk is dat de invloed van biologische factoren (actieve regulatie) in het geval van koper dominant is over de invloed van abiotische factoren. Ook de interne gehalten van zink bleken,

onafhankelijk van de externe zink pools en bodemeigenschappen, in een aantal bodemorganismen en planten op een vergelijkbaar niveau te liggen. Voor de overige organismen werd wél een correlatie tussen de interne evenwichtsgeltes en metaal pools en bodemeigenschappen gevonden. Hierbij bleek dat de externe zink pools in het algemeen het grootste deel van de variantie in interne zinkgeltes tussen organismen blootgesteld in de verschillende bodems beschreven. In Tabel 3 zijn ter illustratie de relaties weergegeven tussen de evenwichtsniveaus van zink in de onderzochte bodemorganismen en planten, en het zinkgehalte in het poriewater. Alhoewel in een aantal gevallen een andere zink pool (zoals het CaCl<sub>2</sub>-extraheerbaar zinkgehalte in het geval van sla, en het EDTA-extraheerbaar zinkgehalte in geval van mosterd) een groter deel van de variantie in de data verklaarde, was het zinkgehalte in het poriewater de parameter die, over de hele linie van geteste dieren en planten genomen, de meeste variantie in de gemeten interne geltes beschreef.

Tabel 3. Correlaties tussen log-getransformeerde evenwichtsgeltes van zink in een aantal dieren en planten na blootstelling in landbodems, en totaalgeltes aan zink in het poriewater. Ter illustratie zijn de waardes van  $R^2_{adj}$  (de voor het aantal datapunten gecorrigeerde regressiecoëfficiënt) en de standard error (s.e.) gegeven.

Bodemorganisme/plant	Regressievergelijking	Statistische parameters
Sla ( <i>Lactuca sativa</i> L.)	$\text{Log } [Zn]_{int} = -0.20 + 0.43 * \text{log } [Zn]_{pw}$	$R^2_{adj}=0.79$ , s.e. = 0.22
Klaver ( <i>Trifolium pratense</i> )	$\text{Log } [Zn]_{int} = 0.26 + 0.69 * \text{log } [Zn]_{pw}$	$R^2_{adj}=0.78$ , s.e. = 0.19
Mosterd ( <i>Sinapsis alba</i> )	$\text{Log } [Zn]_{int} = 0.20 + 0.58 * \text{log } [Zn]_{pw}$	$R^2_{adj}=0.66$ , s.e. = 0.25
Regenworm ( <i>Eisenia andrei</i> )	Regulatie tot $[Zn]_s = 3$ mmol/kg, daarboven: $\text{Log } [Zn]_{int} = 0.32 + 0.34 * \text{log } [Zn]_{pw}$	$R^2_{adj}=0.76$ , s.e. = 0.09
Enchytrae ( <i>Enchytraeus crypticus</i> )	Vergelijkbare $[Zn]_{int}$ in alle gronden	N.S.
Springstaart ( <i>Folsomia candida</i> )	Vergelijkbare $[Zn]_{int}$ in alle gronden	N.S.
Keverlarve ( <i>Tenebrio molitor</i> )	Vergelijkbare $[Zn]_{int}$ in alle gronden	N.S.

$[Zn]_{int}$  = evenwichtsgelalte van zink in het organisme ( $\mu\text{mol/kg}$  droge stof),  $[Zn]_{pw}$  = het totaalgelalte aan zink in het poriewater (mmol/l),  $[Zn]_s$  = het totaalgelalte aan zink in de vaste fase (mmol/kg droge stof), bepaald met behulp van koningswaterdestructie. N.S. = geen significante correlatie gevonden.

Vooralsnog is onduidelijk waarom in het ene organisme wél vergelijkbare interne geltes worden gevonden tussen verschillende gronden, en in het andere organisme juist niet. Het onderzoek toont hiermee aan dat het op dit moment veelal nog ontbreekt aan voldoende kennis om op een verantwoorde manier met het aspect van regulatie om te kunnen gaan in normstelling/risicobeoordeling. Het onlangs door Slijkerman et al. [6] gepresenteerde conceptuele kader voor de toekomstige normstelling van essentiële metalen biedt goede handvatten om in de toekomst nadere invulling aan deze leemte in kennis te kunnen geven.

- Voor de niet-essentiële metalen werd in het algemeen gevonden dat de interne evenwichtsgehalten van de onderzochte organismen en planten:
  1. Ofwel voor een groot gedeelte onder de analytische detectielimieten lagen (met name gold dit voor Ni en Cr, en in iets mindere mate voor Pb)
  2. Ofwel nauwelijks afweken van de initiële gehalten (opnieuw met name voor Ni en Cr, en in iets mindere mate voor Pb)
  3. Danwel gerelateerd waren aan externe metaalpools en bodemeigenschappen, waarbij de invloed van de externe metaalpools het grootste was. Ter illustratie zijn in Tabel 4 de relaties weergegeven tussen de evenwichtsniveaus van cadmium in de onderzochte organismen en planten, en de externe cadmium pools.

Tabel 4. Correlaties tussen log-getransformeerde evenwichtsgehalten van cadmium in een aantal bodemorganismen en planten na blootstelling in landbodems, en log-getransformeerde totaalgehalten aan cadmium in het poriewater. Ter illustratie zijn de waarden van  $R^2_{adj}$  (de voor het aantal datapunten gecorrigeerde regressiecoëfficiënt) en de standard error (s.e.) gegeven.

Organisme/plant	Regressievergelijking	Statistische parameters
Correlaties met $[Cd]_{pw}$		
Sla ( <i>Lactuca sativa</i> L.)	$\text{Log } [Cd]_{int} = -0.88 + 0.64 * \text{log } [Cd]_{pw}$	$R^2_{adj}=0.63$ , s.e. = 0.46
Klaver ( <i>Trifolium pratense</i> )	$\text{Log } [Cd]_{int} = -0.41 + 0.98 * \text{log } [Cd]_{pw}$	$R^2_{adj}=0.68$ , s.e. = 0.28
Mosterd ( <i>Sinapsis alba</i> )	$\text{Log } [Cd]_{int} = -0.96 + 0.59 * \text{log } [Cd]_{pw}$	$R^2_{adj}=0.51$ , s.e. = 0.35
Regenworm ( <i>Eisenia andrei</i> )	$\text{Log } [Cd]_{int} = -1.13 + 0.68 * \text{log } [Cd]_{pw}$	$R^2_{adj}=0.88$ , s.e. = 0.17
Enchytrae ( <i>Enchytraeus crypticus</i> )	$\text{Log } [Cd]_{int} = -2.35 + 0.92 * \text{log } [Cd]_{pw}$	$R^2_{adj}=0.62$ , s.e. = 0.47
Correlaties met $[Cd]_s$		
Springstaart ( <i>Folsomia candida</i> ) in landbodems	$\text{Log } [Cd]_{int} = -0.01 + 0.53 * \text{log } [Cd]_s$	$R^2_{adj}=0.54$ , s.e. = 0.32 (0.71, 0.27) <sup>1</sup>
Springstaart ( <i>Folsomia candida</i> ) in Cd-gespikete OECD-grond	$\text{Log } [Cd]_{int} = 2.49 + 0.66 * \text{log } [Cd]_s$	$R^2_{adj}=0.97$ , s.e. = 0.08
Keverlarve ( <i>Tenebrio molitor</i> ) <sup>2</sup>	$\text{Log } [Cd]_{int} = -0.01 + 0.56 * \text{log } [Cd]_s$	$R^2_{adj}=0.65$ , s.e. = 0.32

$[Cd]_{int}$  = evenwichtsgehalte van cadmium in het organisme ( $\mu\text{mol/kg}$  droge stof),  $[Cd]_{pw}$  = het totaalgehalte aan cadmium in het poriewater (mmol/l),  $[Cd]_s$  = het totaalgehalte aan cadmium in de vaste fase (mmol/kg droge stof), bepaald met behulp van koningswaterdestructie. <sup>1</sup>: na weglaten van één 'uitbijter' <sup>2</sup>: zelfde correlatie gevonden voor mengsels van landbodems en sediment (baggerspecie), en voor Cd-gespikete OECD-grond.

- De in Tabel 4 gepresenteerde correlaties hebben betrekking op cadmium. Voor de organismen die zijn genoemd in Tabel 4 zijn vergelijkbare relaties gevonden voor lood. Zoals blijkt uit Tabel 4 kan een onderscheid gemaakt worden tussen organismen waarvoor de interne evenwichtsgehalten van cadmium (en lood) kunnen worden beschreven op basis van het metaalgehalte in het poriewater, en organismen waarvan dit het beste kan gebeuren op basis van het totaal metaalgehalte in de vaste fase. Opnieuw is een tweedeling zichtbaar in enerzijds zachtzijdige organismen en planten (hoogstwaarschijnlijk porie-

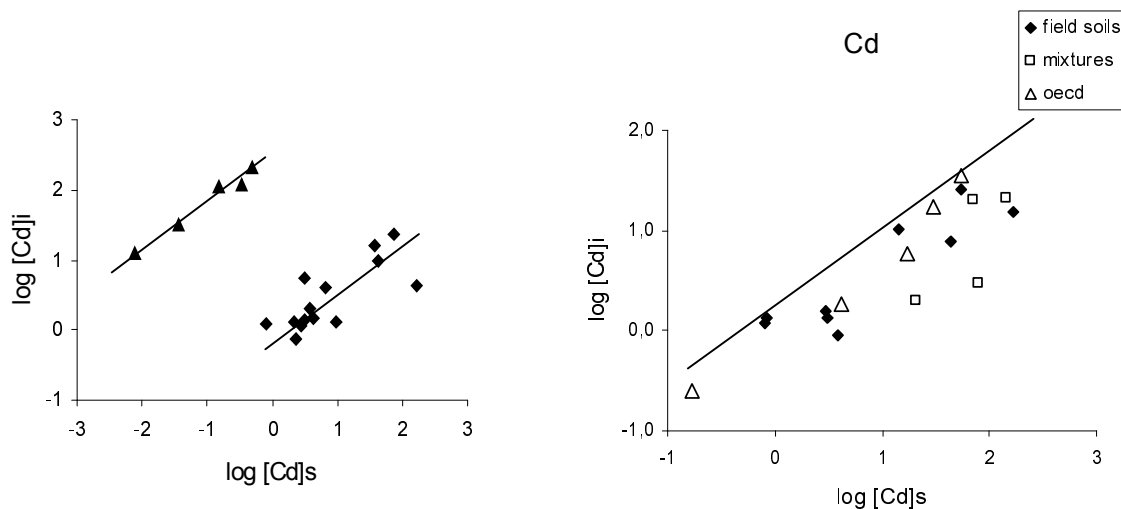
water-opname) en anderzijds hardhuidige of semi-hardhuidige organismen (mogelijk directe opname vanuit de vaste fase van de bodem, inclusief blootstelling via voedsel, al dan niet na modificatie van het voedsel of de bodemdeeltjes door middel van bijvoorbeeld vertering in de maag). Door onder andere McGrath [38] en Plette et al. [39] is aangetoond dat ook micro-organismen via het poriewater worden blootgesteld en, voor wat betreft metaalopname, ingedeeld kunnen worden in de categorie van zachthuidige organismen en planten. Verder worden de correlaties die zijn weergegeven in Tabel 4 ondersteund door recente bevindingen van Oste et al. voor de worm *Lumbricus rubellus* [40].

- Toxiciteitsdata worden normaliter gegenereerd door het toevoegen (spiken) van metaalzouten aan bodemsubstraten. Deze substraten kunnen zowel veldgronden zijn, alsook kunstmatige substraten zoals bijvoorbeeld OECD-grond. De resultaten van toxiciteitstoetsen met kunstmatige substraten kunnen rechtstreeks gebruikt worden voor het voorspellen van metaal toxiciteit in niet-geteste bodems. Hiervoor dient te worden uitgegaan van de veronderstellingen dat:

1. Toxiciteit pas optreedt nadat een kritisch intern metaalgehalte is bereikt (het zogenaamde critical body burden concept), of (in geval van planten) indien een kritische flux wordt overschreden.
2. De biobeschikbaarheid van toegevoegd metaal gelijk is aan de biobeschikbaarheid van de reeds in de bodem aanwezige metalen

Een wezenlijk verschil in accumulatie van cadmium is waarneembaar tussen van nature met cadmium belaste veldgronden en substraten waaraan cadmiumzouten zijn toegevoegd. Tabel 4 laat zien dat in het geval van de springstaart *F. candida*, bij een identiek totaal-cadmium gehalte, het interne evenwichtsgehalte in geaddeerde OECD-grond ruwweg een factor 1000 hoger is het evenwichtsgehalte in niet-behandelde veldgronden. Daarentegen blijkt er voor de keverlarve *T. molitor* geen verschil in biobeschikbaarheid te zijn tussen Cd-gespikete OECD-grond en veldgronden. Het is zelfs zo dat de accumulatie van Cd en Pb door dit organisme in veldgronden vergelijkbaar is met de accumulatie in mengsels van landbodem en sediment. Uit deze waarnemingen kan geconcludeerd worden dat resultaten van toxiciteitsexperimenten met geaddeerde (kunst)grond, op een organisme-specifieke wijze naar veldgronden dienen te worden geëxtrapoleerd. Ter illustratie zijn in Figuur 2 de accumulatiepatronen van cadmium voor *F. candida* en *T. molitor* weergegeven op basis van het totaal Cd-gehalte in de vaste fase. Opname van lood door *F. candida* in gespikete grond is niet bestudeerd, voor *T. molitor* was ook in het geval van lood de accumulatie in gespikete OECD-grond vergelijkbaar

met die in veldgronden met hetzelfde totaalgehalte aan lood in de vaste fase. Voor zover bekend zijn er momenteel onvoldoende vergelijkbare data beschikbaar voor organismen die metalen via het poriewater opnemen.



Figuur 2. Vergelijking van evenwichtsgehaltenes van cadmium in de springstaart *Folsomia candida* (links - driehoeken: gespikete OECD-grond, vierkanten: van nature met cadmium belaste veldgronden) en de keverlarve *Tenebrio molitor* (rechts) na blootstelling in een aantal van nature belaste veldgronden en na blootstelling in kunstmatig met cadmium verontreinigde OECD-grond. Uitgezet zijn de log-getransformeerde interne evenwichtgehaltenes ( $[Cd]_i$ ,  $\mu\text{mol/kg}$  droge stof) als functie van het log-getransformeerd totaal cadmium-gehalte in de vaste bodemfase ( $[Cd]_s$ ,  $\mu\text{mol/kg}$  droge stof). Field = data verkregen in van nature met cadmium verontreinigde veldgronden, mixtures = data verkregen in mengsels van landbodems en sedimenten, OECD = data verkregen in OECD-grond waaraan  $\text{CdCl}_2$  is toegevoegd.

Samenvattend kan op basis van de in deze paragraaf gepresenteerde resultaten gesteld worden dat:

1. Er een wezenlijk verschil is in accumulatie van essentiële en niet-essentiële metalen. In geval van essentiële metalen is de ecologie van het organisme of de plant belangrijker dan de invloed van externe metaal pools en/of milieufactoren, en er is dan ook geen relatie tussen interne en externe metaalgehaltenes. Meer kennis is nodig om ten behoeve van normstelling en risicobeoordeling op adequate wijze om te kunnen gaan met de essentialiteit van sommige metalen.
2. Er in zijn algemeenheid met betrekking tot organisme-specifieke opname van niet-essentiële metalen, twee groepen van bodemorganismen kunnen worden onderscheiden: enerzijds micro-organismen, (zachthuidige) organismen en planten waarvoor de metaalopname in kwantitatieve zin het beste beschreven kan worden op basis van het metaalgehalte in het poriewater, en (semi-) hardhuidige organismen waarvoor het totaal metaalgehalte in de vaste fase het beste correleert met interne metaalgehaltenes. Bij de eerste categorie speelt opname direct of indirect via het poriewater een kwantitatief be-



langrijke rol. Bij de tweede categorie is opname via de vaste fase van belang (onder andere via het eten van bodemdeeltjes). Aangezien deze laatste waarneming betrekking heeft op slechts enkele organismen, is het de vraag in hoeverre deze waarneming algemeen geldend is voor een groot scala aan hardhuidige bodembewoners.

3. Het (abiotisch getinte) onderzoek beschreven onder paragraaf 2.2 een bijdrage levert aan de kwantificering van metaalopname en de daaruit voortvloeiende effecten voor de organismen die voornamelijk via het poriewater worden blootgesteld. Echter, de onder andere door de Rooy et al. [8] gegeven definities van potentieel en actueel beschikbare metaalfracties komen niet overeen met de daadwerkelijk beschikbare fracties: er is geen unieke correlatie tussen metaalopname door alle bodemorganismen en één enkelvoudige maat voor de fysisch-chemische beschikbaarheid van metalen.
4. Extrapolatie van resultaten van accumulatie- en toxiciteitsexperimenten in substraten waaraan metaalzouten zijn toegevoegd naar realistische veldomstandigheden, niet voor elk organisme op dezelfde manier kan worden uitgevoerd. Opnieuw is onbekend hoe universeel deze waarneming is en verder onderzoek is noodzakelijk om dit te achterhalen. Per (groep van) organisme(n) dient nagegaan te worden in hoeverre de beschikbaarheid in kunstmatige vervuilde grond anders is dan in veldgronden.
5. Dé biobeschikbare fractie niet bestaat, maar dat deze metaal-, organisme- en bodem-specifiek is.

Alhoewel het benodigde verdere onderzoek (zoals hierboven verwoord onder 1, 2 en 4) complementair is, kan gesteld worden dat onderzoek met betrekking tot item 2 het meeste zal bijdragen aan het verbeteren van de normstelling. In afnemende volgorde zijn items 1 en 4 prioritair.

## **2.4 Toxicologisch biobeschikbaarheid van metalen**

Zoals hiervoor vermeld, was een van de nul-hypothesen bij het onderzoek dat effecten van metalen op organismen en planten gerelateerd zijn aan de interne metaalgehalten. Hierbij wordt er vanuit gegaan dat effecten pas zullen optreden nadat het interne metaalgehalte een organisme- en metaalspecifieke drempelwaarde heeft overschreden (het zogenaamde kritische interne lichaamsgehalte, of critical body burdens). Op basis van informatie over de hoogte van critical body burdens voor specifieke organismen in combinatie met een kwantificering van de belangrijkste opnameroutes, kunnen effecten van metalen op specifieke soorten in specifieke landbodems worden berekend op basis van het (gemeten) biobeschikbare

metaalgehalte, expliciet rekening houdend met de metaalpartitie. Tot op heden is echter nog relatief weinig aandacht geschonken aan het aspect van toxicologische beschikbaarheid van metalen. Smit [41] en van Gestel et al. [42] hebben aangetoond dat in geval van het essentiële metaal zink reeds effecten op reproductie van regenwormen en springstaarten optreden voordat het regulatieniveau wordt overschreden. Een belangrijke vraag is in hoeverre er sprake is van een correlatie tussen de gevoeligheid en de verschillende mechanismen die bij bodemorganismen worden aangetroffen voor de opname en interne verwerking van metalen. Crommentuijn [43] heeft aangetoond dat soorten die een hoge accumulatie vertonen relatief ongevoelig zijn, bijvoorbeeld omdat zij beschikken over een efficiënt mechanisme om metalen in hun lichaam vast te leggen. Zoals aangegeven door Wallace en Lopez [44] is de interne beschikbaarheid van metalen in het organisme kennelijk mede van invloed op de toxiciteit. Uit de literatuurstudie van Belfroid en Van Gestel [9] wordt duidelijk dat verschillende factoren van invloed zijn op de hoogte van het kritische interne lichaamsgehalte. Zo vond Zonneveld [45] dat de opnameroute van belang kan zijn (vanwege inerte opslag in het organisme in geval van opname via grond, terwijl metalen die via het voedsel worden opgenomen direct worden getransporteerd naar het target-orgaan). Daarnaast zijn volgens Crommentuijn [43] en Van Gestel [46] bijvoorbeeld ook abiotische factoren van invloed op de gevoeligheid van organismen (abiotische factoren bepalen dus niet alleen de partitie en speciatie van metalen, maar kunnen ook de toxiciteit beïnvloeden). Onderzoek van Smit [41] en Posthuma et al. [47] toonde aan dat wateroplosbare of calciumchloride-extraheerbare zinkfracties de toxiciteit van zink voor springstaarten, regenwormen, enchytraeën en planten verklaarden. Dit suggereert dat de opgeloste fractie niet alleen van groot belang is voor de opname, maar ook voor de toxiciteit van zink voor deze bodeminvertebraten en planten. Aan de andere kant correleerde de toxiciteit van cadmium voor springstaarten echter niet met de wateroplosbare fractie, hetgeen mogelijk komt doordat ook de speciatie van het metaal in de oplossing van belang is [43,46].

Uit het voorgaande kan geconcludeerd worden dat voor wat betreft de toxicologische biobeschikbaarheid van metalen, nadere invulling van het critical body burden concept noodzakelijk is. Momenteel zijn relatief weinig toxiciteitsgegevens voorhanden waarmee invulling aan het concept gegeven kan worden. Veelal ontbreken bij de tot op heden in de literatuur gerapporteerde data, de (partitie- en accumulatie-)gegevens die essentieel zijn voor het vaststellen van de belangrijkste opnameroutes, de hoogte van het kritische interne lichaamsgehalte en de invloed van interne en externe factoren op dit kritische interne gehalte. In het

bijzonder ontbreekt het voor de praktijk van normstelling/risicobeoordeling vooralsnog aan kennis om de toxicologische biobeschikbaarheid van essentiële metalen te kwantificeren. Dit blijkt onder andere ook uit het in paragraaf 2.1 beschreven onderzoek van McLaughlin [14], die heeft nagegaan in hoeverre het mogelijk is om in de literatuur gerapporteerde toxiciteitsdata van zink (laboratoriumdata op basis van totaalgehalten aan toegevoegd zink) voor bodeminvertebraten waarvan verondersteld wordt dat ze via het poriewater aan zink worden blootgesteld, te normaliseren op zinkgehalten in het poriewater. De resulterende set van genormaliseerde EC<sub>50</sub>-data bleek echter schever verdeeld te zijn (meer spreiding in de EC<sub>50</sub>-data) dan de oorspronkelijke dataset, hetgeen de huidige beperkingen van normalisatie op basis van de (veronderstelde) biobeschikbare fractie duidelijk aantoont. Voor een gedeelte wordt dit veroorzaakt doordat de belangrijkste factoren die van belang zijn voor de metaalpartitie in de bij de toxiciteitstoetsen gebruikte bodems, niet gemeten zijn tijdens deze toetsen.

Samenvattend kan op basis van de in deze paragraaf gepresenteerde resultaten gesteld worden dat:

1. Het momenteel ontbreekt aan voldoende data om nadere invulling te geven aan het critical body burden-concept dat ten grondslag ligt aan het concept van toxicologische biobeschikbaarheid. Voor toepassing in normstelling/risicobeoordeling ontbreekt het nog aan kennis over de hoogte van kritische interne lichaamsgehalten voor specifieke bodemorganismen. Verder is de invloed van verschillende opnameroutes op het kritische interne lichaamsgehalte niet systematisch uitgezocht, en is ook de invloed van modificerende factoren (onder andere abiotische omstandigheden) veelal nog onbekend. Hierdoor is het nog niet mogelijk om uitspraken te doen over de mate van validiteit van het critical body burden concept voor bodemorganismen en planten. Daarnaast kan nog niet aangegeven worden in hoeverre het in de nabije toekomst mogelijk zal worden om op basis van (relatief eenvoudig te meten) totaalgehalten van metalen in hetzij de vaste fase, hetzij het poriewater, daadwerkelijk optredende effecten in bodemorganismen en planten te voorspellen én te valideren.
2. Ook voor wat betreft toxicologische biobeschikbaarheid, meer kennis nodig is om ten behoeve van normstelling en risicobeoordeling op adequate wijze om te kunnen gaan met de essentialiteit van sommige metalen.

### **3. Evaluatie/vooruitblik richting normstelling/risicobeoordeling**

De opname van metalen door bodemorganismen en planten is metaal-, soort- en bodemspecifiek. In het bijzonder is elke soort in principe uniek met betrekking tot zijn reactie op blootstelling aan essentiële en niet-essentiële metalen in termen van opname, eliminatie, eventuele interne opslag van een overmaat aan metaal en de uiteindelijke toxische respons (interactie met specifieke receptoren). De respons is daarbij afhankelijk van de directe of indirecte invloed van één of meerdere bodemeigenschappen. Dit principe zou inhouden dat risicobeoordeling en normstelling dienen te geschieden op het niveau van individuele soorten. Voor de praktijk van risicobeoordeling/normstelling is dit echter geen gewenste situatie en is het nodig om soorten met specifieke overeenkomsten zoveel mogelijk te groeperen in klassen. Voorbeelden van dergelijke classificaties worden gegeven door Griesbach et al. [48] (op basis van gewicht), Thomann et al. [49] (plaats in voedselketen) en Smock [50] (voedselkeuze). Alhoewel deze classificatiesystemen eenduidig zijn, hebben ze gemeen dat ze geen mogelijkheden bieden om een koppeling te maken tussen de klasse-indeling en ongewenste effecten als gevolg van blootstelling aan toxicanten conform de door Van Wensem et al. voorgestelde methodologie op basis van kritische interne lichaamsgehalten [20]. Door Janssen [51] is voor bodemorganismen die aan cadmium worden blootgesteld, een classificatie voorgesteld op basis van cadmium turnover. Hierbij wordt rekening gehouden met voedselkeuze door organismen, verschillen in typische interne cadmiumgehalten, assimilatie- en excretiesnelheden en de organen waarin de hoogste cadmiumgehalten worden aangetroffen. Hierbij wordt aangenomen dat assimilatie en eliminatie gekoppeld zijn aan de fysiologie en anatomie van het desbetreffende organisme. In lijn met het voorstel van Janssen suggereren ook de resultaten van de studies die in de paragrafen 2.3 en 2.4 zijn beschreven, dat er overeenkomsten in opname- en eliminatiepatronen bestaan tussen taxonomisch gerelateerde bodemsoorten. De resultaten suggereren dat het ten behoeve van normstelling/risicobeoordeling mogelijk is om een pragmatische indeling te maken van bodemorganismen en planten op basis van opnameroutes. Hierbij zouden subgroepen kunnen worden geïdentificeerd op basis van de respons van organismen op variaties in de bodemeigenschappen die de opname en eliminatie het sterkst beïnvloeden. Zoals weergegeven in paragraaf 2.3 kunnen in het geval van de niet-essentiële metalen cadmium en lood, twee groepen van organismen en planten worden onderscheiden:

1. Bodemorganismen en planten die direct of indirect via het poriewater worden blootgesteld en waarbij het interne metaalgehalte in de evenwichtssituatie correleert met het cadmium- of loodgehaltes in het poriewater. Voorbeelden van organismen en planten die in deze groep thuis horen, betreffen zachthuidige bodeminvertebraten (zoals bijvoorbeeld regenwormen en enchytraeën), planten (zoals bijvoorbeeld sla, witte mosterd en rode klaver), maar ook micro-organismen (McGrath et al. [38] en Plette et al. [52]).
2. Bodemorganismen die via de vaste fase (inclusief voedsel en eten van bodemdeeltjes) worden blootgesteld en waarbij het interne metaalgehalte in de evenwichtssituatie correleert met het cadmium- of loodgehalte in de vaste fase. Voorbeelden betreffen semi-hardhuidige en hardhuidige organismen zoals bijvoorbeeld springstaarten en keverlarven.

Deze classificatie is gebaseerd op overeenkomsten tussen de bodemeigenschappen die de grootste invloed op de interne metaalgehalten na blootstelling in een aantal Nederlandse veldbodems. Er wordt hierbij geen rekening gehouden met verschillen in hoogte van de interne metaalgehalten en met verschillen in gevoeligheid tussen biota. Dit betekent dat er binnen de beide groepen en tussen de soorten grote verschillen in opnamepatronen en effecten op kunnen treden als gevolg van fysiologische eigenschappen, maar dat die verschillen door dezelfde bodemfactoren beïnvloed worden.

Het bovenstaande impliceert dat normstelling en (locatiespecifieke) risicobeoordeling primair uitgevoerd zouden kunnen worden op basis van de hier gepresenteerde indeling in minimaal twee klassen. Een optie zou kunnen zijn om twee generieke normen af te leiden voor de twee groepen bodemorganismen, waarbij beschikbaarheid als opnamekarakteristiek wordt meegenomen. Een andere optie zou kunnen zijn om de resultaten van de risicobeoordeling voor de twee afzonderlijke klassen van organismen en planten te integreren. Hierbij zou rekening gehouden kunnen worden met de (kwantitatieve) representatie van de verschillende opnameroutes in een ecosysteem. Voor de praktijk van feitelijke risicobeoordeling/normstelling zou ook in dit geval als uitgangspunt gekozen kunnen worden voor totaalgehalten aan metalen in de vaste bodemmatrix. Mits gewerkt wordt met toxiciteitsdata op basis van totaalgehalten, die op de juiste wijze geëxtrapoleerd kunnen worden naar veldomstandigheden, kan normstelling voor organismen die via de vaste bodemfase metalen opnemen, ook in de toekomst op basis van totaalgehalten geschieden. Voor organismen die via het poriewater worden blootgesteld, dient gebruik gemaakt te worden van metaalgehalten in het poriewater. Deze zouden ofwel via meting kunnen worden verkregen, danwel worden

berekend met behulp van gevalideerde partitiemodellen op basis van totaalgehalten in de vaste fase. In vergelijking met de huidige situatie, zou de laatste optie inhouden dat slechts een beperkt aantal, eenvoudig te meten, extra parameters nodig is voor het daadwerkelijk meenemen van biobeschikbaarheid in normstelling. Hierbij zij aangetekend dat te verwachten valt dat deze extra te meten bodemeigenschappen niet in de norm verwerkt zullen worden, maar dat ze behoren bij de toetsing van de lokale condities aan de generieke norm.

Bij het bovenstaande dient opgemerkt te worden dat de hierboven weergegeven groepenindeling betrekking heeft op waarnemingen aan slechts enkele organismen. Het is dan ook de vraag in hoeverre deze indeling algemeen geldend is voor een groot scala aan bodembewoners en planten en in hoeverre er binnen de groepen verschillen zijn waarmee rekening zou moeten worden gehouden. Nader onderzoek is nodig teneinde duidelijkheid te krijgen over de algemeenheid van de gepresenteerde groepenindeling. Met name voor de niet essentiële metalen zijn relatief weinig gegevens beschikbaar (zoals bijvoorbeeld Cr, Hg, Ni en het metalloïde As). Bovendien is het nodig om helderheid te krijgen over de vraag in hoeverre toxiciteit (toxicologische biobeschikbaarheid) als gevolg van blootstelling aan niet-essentiële metalen afhangt van bodemeigenschappen en metaalgehalten. Verder dient opgemerkt te worden dat op dit moment onvoldoende gegevens en inzichten beschikbaar zijn om invulling te geven aan de risicobeoordeling van essentiële metalen. Het door Slijkerman et al. [6] gepresenteerde conceptuele kader voor de toekomstige normstelling van essentiële metalen biedt hiervoor goede handvatten.

Samenvattend kan gesteld worden dat het tot op heden uitgevoerde onderzoek met betrekking tot de mogelijkheden om bij normstelling en risicobeoordeling expliciet rekening te houden met verschillen in biobeschikbaarheid, bouwstenen heeft aangereikt voor een toekomstig systeem op basis van de belangrijkste (bodem-gerelateerde) factoren die de biobeschikbaarheid modifieren. Gelet op de invloed op metaalpartitie, en hiermee op de beschikbare metaalgehalten voor de grote groep van bodemorganismen en planten die metalen direct of indirect via het poriewater opnemen, is de pH een belangrijke modifierende factor. In de toekomst zou bij generieke normstelling en vooral bij locatiespecifieke risicobeoordeling, dan ook in sterkere mate dan nu het geval is rekening met deze parameter moeten worden gehouden. Essentieel is echter dat een nieuw systeem van normering/risicobeoordeling 'beter' moet zijn dan het huidige systeem op basis van totaalgehalten. Op dit moment lijken er nog onvoldoende gegevens en goed onderbouwde concepten voorhanden om daadwerkelijk

over te gaan tot implementatie van een vernieuwd systeem, daarnaast zijn de beschikbare gegevens soms met elkaar in tegenspraak.

## **4. Conclusie: mogelijkheden voor implementatie biobeschikbaarheid in risicobeoordeling landbodems**

Op basis van de in dit rapport beschreven bevindingen van de in de afgelopen jaren uitgevoerde studies naar de mogelijkheden om biobeschikbaarheid in normstelling/locatiespecifieke risicobeoordeling van landbodems te incorporeren, kan worden geconcludeerd dat:

1. Er mogelijkheden zijn om in de toekomst bij risicobeoordeling/locatiespecifieke normstelling meer dan nu het geval is, rekening te houden met verschillen in biobeschikbaarheid. Op dit moment ontbreekt het echter nog aan voldoende gegevens en inzichten om een gemodificeerd systeem van risicobeoordeling/locatiespecifieke normstelling te ontwikkelen, dat 'beter' dan de huidige methodiek, in staat is om daadwerkelijk optredende effecten van metalen in bodemecosystemen te kwantificeren. Naar verwachting zal het nog wel enkele jaren duren alvorens een dergelijk systeem operationeel kan zijn.
2. Een toekomstig gemodificeerd systeem van risicobeoordeling/locatiespecifieke normstelling van zware metalen in landbodems gebaseerd zou kunnen zijn op twee sets van toxiciteitsdata: een dataset voor organismen die via het poriewater worden blootgesteld en een set voor organismen die metalen via de vaste fase opnemen. Voor de praktijk van normstelling/risicobeoordeling zou deze tweedeling desalniettemin inhouden dat zowel locatiespecifieke risicobeoordeling als normstelling primair gebaseerd zouden kunnen blijven op totaalgehalten in de vaste fase. Wel is het nodig om een beperkt aantal bodemeigenschappen die bepalend zijn voor de biobeschikbare fractie, expliciet mee te nemen. Te verwachten valt dat deze bodemeigenschappen niet in de norm verwerkt zullen worden, maar dat ze behoren bij de toetsing van de lokale condities aan de generieke norm. De tweedeling zou als voordeel hebben dat hiermee de link tussen daadwerkelijke blootstelling en daadwerkelijke effecten voor alle bodemorganismen op de juiste wijze wordt gekwantificeerd.
3. De vaste bodemfase en het poriewater twee verschillende entiteiten zijn met een eigen chemie en een eigen scala aan biologische receptoren (organismen met verschillende dominante opnameroutes). Normstelling/risicobeoordeling zou expliciet rekening moeten houden met de karakteristieke verschillen tussen zowel de chemische alsook de biologische/ecologische verschillen tussen de vaste bodemfase en het poriewater, waarbij het



er op lijkt dat normstelling/locatiespecifieke risicobeoordeling op basis van alleen het poriewatergehalte, niet toereikend is. Gelet op de hier gesignaleerde onzekerheden en het gebrek aan voldoende onderliggende data, kan nog geen concreet voorstel worden gedaan voor de wijze waarop dit zou moeten gebeuren.

4. Toxische effecten van metalen op bodemorganismen moeilijk te voorspellen zijn. Dit komt doordat toxiciteit optreedt als gevolg van een reeks aan processen, die ieder op zich worden beïnvloed door een scala aan in- en externe factoren.
5. Dé biobeschikbare fractie niet bestaat, maar dat deze metaal-, organisme- en bodem-specifiek is.
6. Een eerder door anderen ontwikkeld conceptueel model voor biobeschikbaarheid wordt voorgesteld als kader voor benodigd onderzoek en verdere ontwikkeling, dat er vanuit gaat dat effecten pas optreden nadat een organisme- en metaalspecifieke drempelwaarde is overtreden. Dit concept omvat een drietal deelprocessen: fysisch-chemische metaalpartitie in afhankelijkheid van sturende bodemparameters, bodem-, organisme en metaalspecifieke opname van metalen door bodemorganismen, en interne redistributieprocessen leidend tot interactie met specifieke receptoren voor toxiciteit.
7. Een scala aan (relatief eenvoudig uit te voeren) extractie- en destructietechnieken ontwikkeld is voor het bepalen van metaalgehaltenes in de vaste bodemfase en in het poriewater. Tevens kunnen de belangrijkste bodemeigenschappen die het gedrag van metalen bepalen, op relatief eenvoudige wijze worden bepaald. Onduidelijk is nog in hoeverre de met behulp van de extracties en destructies verkregen metaalfracties ook daadwerkelijk *biobeschikbaar* zijn voor bodemorganismen en planten. Ook is het op dit moment vrij goed mogelijk om metaalactiviteiten in poriewaters te modelleren, maar worden problemen ondervonden bij het op routinematige basis meten van metaalactiviteiten in poriewater van Nederlandse land- en waterbodems. Verdere uitbouw van de modellen en meettechnieken is noodzakelijk om ze beter geschikt te maken voor het doel van validatie van de onderliggende processen in het hiervoor genoemde biobeschikbaarheidsconcept.
8. De empirische modellen die ontwikkeld zijn voor het voorspellen van metaalactiviteiten en metaalgehaltenes in het poriewater (inclusief de huidige Freundlich-isothermen en modellen voor het voorspellen van partitiecöefficienten) op basis van relatief eenvoudig uit te voeren bodemextracties en –destructies, verdere verbetering behoeven. Dit betreft onder andere de vermindering van de intrinsieke onzekerheden in de modellen.
9. Metaalpartitie zoals die normaliter onder labomstandigheden gemeten wordt (toevoegen van metaalzouten, waarna partitie na een vervolgens relatief korte equilibratietijd wordt

gemeten) een onderschatting geeft van de metaalpartitie in *vergelijkbare* veldgronden. Dit kan als consequentie hebben dat toxiciteitstoetsen (die veelal ook na een korte equilibratietijd van toegevoegde metaalzouten worden uitgevoerd) een overschatting geven van de daadwerkelijk optredende effecten in vergelijkbare veldbodems. Er is dus meer kennis nodig aangaande de kinetiek/dynamiek van metaalsorptie- en -desorptie in landbodems, inclusief de processen die ten grondslag liggen aan het begrip 'veroudering'.

10. Er een wezenlijk verschil is in accumulatie van essentiële en niet-essentiële metalen. In het geval van essentiële metalen is de ecologie van het bodemorganisme of de plant belangrijker dan de invloed van externe metaal pools en/of milieufactoren, en er is dan ook geen relatie tussen interne en externe metaalgehalten. Meer kennis is nodig om ten behoeve van normstelling en locatiespecifieke risicobeoordeling op adequate wijze om te kunnen gaan met de essentialiteit van sommige metalen.
11. Er in zijn algemeenheid met betrekking tot organisme-specifieke opname van niet-essentiële metalen, twee groepen van bodemorganismen kunnen worden onderscheiden: bodemorganismen en planten waarvoor de metaalopname het beste beschreven kan worden op basis van het metaalgehalte in het poriewater, en organismen waarvoor het totaal metaalgehalte in de vaste fase het beste correleert met interne metaalgehalten.
12. Er geen *unieke* correlatie is tussen metaalopname door bodemorganismen en één eenvoudige maat voor de fysisch-chemische beschikbaarheid van metalen.
13. Extrapolatie van resultaten van accumulatie- en toxiciteitsexperimenten in substraten waaraan metaalzouten zijn toegevoegd naar realistische veldomstandigheden, niet voor elk organisme op dezelfde manier kan worden uitgevoerd. Onbekend is nog hoe universeel deze waarneming is, en verder onderzoek is noodzakelijk om dit te achterhalen. Per (groep van) organisme(n) dient nagegaan te worden in hoeverre de beschikbaarheid in kunstmatige vervuilde grond anders is dan in veldgronden.
14. Het momenteel ontbreekt aan voldoende data om nadere invulling te geven aan het critical body burden-concept dat ten grondslag ligt aan het concept van toxicologische biobeschikbaarheid. Hierdoor is het nog niet mogelijk om uitspraken te doen over de mate van validiteit van het critical body burden concept voor bodemorganismen en planten en kan nog niet aangegeven worden in hoeverre het in de nabije toekomst mogelijk zal worden om op basis van (relatief eenvoudig te meten) totaalgehalten van metalen in hetzij de vaste fase, hetzij het poriewater, daadwerkelijk optredende effecten in bodemorganismen en planten te voorspellen én te valideren.

15. Ook voor wat betreft toxicologische biobeschikbaarheid, meer kennis nodig is om ten behoeve van normstelling en risicobeoordeling op adequate wijze om te kunnen gaan met de essentialiteit van sommige metalen.

Met betrekking tot de gegevens die voor specifieke metalen beschikbaar zijn (zowel wat betreft fysisch-chemisch gedrag in bodems, interacties met bodemorganismen, alsook toxiciteit op basis van beschikbare gehalten) kan gesteld worden dat in het algemeen de meeste kennis beschikbaar is voor de metalen Cd, Cu, Pb en Zn. Sporadisch is informatie te vinden voor Ni, Cr en As, terwijl er nauwelijks bruikbare fysisch-chemische en biologische informatie beschikbaar is voor Hg en de overige, niet-genoemde, metalen. Eventueel vervolgonderzoek zou zich dan ook mede moeten richten op de laatste groepen van metalen.

Alvorens over te kunnen gaan tot daadwerkelijke implementatie van biobeschikbaarheid in normstelling/risicobeoordeling van metalen in landbodems, dient nog een aantal zaken nader te worden uitgezocht. Dit betreft, in volgorde van afnemende prioriteit, onder andere:

- Het verzamelen van voldoende toxiciteitsdata op basis van interne gehalten, het verder onderbouwen van het concept van kritische interne metaalgehalten als maat voor het al dan niet optreden van toxische effecten, dan wel het verder ontwikkelen van directe dosis-effect relaties op basis van beschikbare metaalgehalten.
- Verdere onderbouwing en uitbouw van modellen voor het beschrijven van de beschikbaarheid en accumulatie van zware metalen door bodemorganismen met een uiteenlopende fysiologie, expliciet rekening houdend met de impact van bodemeigenschappen en externe metaalfracties. Met name dient verder uitgezocht te worden in hoeverre de gepresenteerde tweedeling van bodemorganismen, universeel toepasbaar is. Tevens dient in dit kader een inventarisatie van het aantal in Nederland voorkomende zacht- en hardhuidige soorten bodemorganismen te worden uitgevoerd.
- Het ontwikkelen van methodieken voor het extrapoleren van de huidige set van toxiciteitsdata naar realistische veldcondities en voor het omrekenen van bestaande toxiciteitsdata (veelal op basis van totaalgehalten op basis van beschikbare metaalgehalten) naar toxiciteitsdata op basis van biobeschikbare metaalgehalten.
- Het verder uitwerken van het aspect van essentialiteit van enkele metalen. Hier wordt overigens op dit moment al aandacht aan besteed.
- Verdere onderbouwing en uitbouw van de partitievergelijkingen voor zware metalen in landbodems.

Aangezien de validiteit van het in dit rapport gepresenteerde biobeschikbaarheidsconcept voorop dient te staan, zou in eerste instantie met name aandacht besteed dienen te worden aan het aspect van toxicologische biobeschikbaarheid: verdere onderbouwing van het concept van kritische interne metaalgehalten, danwel de ontwikkeling van een alternatief concept. Dit met als doel het verkrijgen van goed onderbouwde dosis-effect relaties waarbij zoveel mogelijk wordt uitgegaan van de daadwerkelijk effectieve dosis. Daarnaast is het verder evalueren van de universaliteit van de voorgestelde tweedeling van organismen prioritair.

## Literatuur

1. Stoffen en Normen, overzicht van belangrijke stoffen en normen in het milieubeleid. Directoraat-Generaal Milieubeheer, Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer. Ten Hagen Stam, Den Haag, 1999.
2. T. Crommentuijn, M.D. Polder, E.J. van de Plassche. Maximum permissible concentrations and negligible concentrations for metals, taking background concentrations into account. 1997. RIVM rapport 601501001.
3. Th. Edelman. Achtergrondgehalten van stoffen in de bodem. VROM publicatiereeks Bodembescherming, nr. 34, Staatsuitgeverij, Den Haag, 1984.
4. Gezondheidsraad: Commissie Risico-evaluatie van Stoffen. Zink. Gezondheidsraad, nr. 1997/34, Rijswijk, 1998.
5. D. Sijm, T. Crommentuijn, H. Eijsackers, W. Peijnenburg. Verslag workshop "Onderzoek naar essentiële metalen (zoals zink en koper) ten behoeve van de afleiding van milieukwaliteitsnormen in Nederland", 11 maart 1999.
6. D.M.E. Slijkerman, C.A.M. van Gestel, N.M. van Straalen. Conceptueel kader voor de normstelling van essentiële metalen in het milieu. Instituut voor Ecologische Wetenschappen, Afdeling Dierecologie, Vrije Universiteit, Amsterdam, 2000.
7. J. Bril, A.C.C. Plette, W.H. van Riemsdijk, N.M. de Rooij, J.G.C. Smits. Methodology for determination of heavy metal standards for soil, phase I: Definition study. 1997. WL/Delft Hydraulics, Delft. Rapport T2004.
8. N.M. de Rooij, R.A.J. Smallegange, J.G.C. Smits, E.J.M. Temminghoff, A.C.C. Plette, J. Bril. Methodolgy for determination of heavy metal standards for soil, phase 2: Development of models and measuring techniques. WL/Delft Hydraulics, Delft. 1999. Rapport T2261.
9. A.C. Belfroid, C.A.M. van Gestel. Blootstellingsroutes van toxische stoffen voor terrestrische invertebraten, literatuurstudie. Vrije Universiteit Amsterdam, Instituut voor Milieuvraagstukken, Amsterdam. 1999. Rapport E-99/06.
10. J. van Steenwijk, E. Sneller, J. Vink, P. den Besten, G. van den Berg, B. van der Heijdt. Zware metalen: speciatie en risicobeoordeling in zoete waterbodems. 2001. RIZA/AKWA rapport 00.007.
11. J.L. Hamelink, P.F. Landrum, H.L. Bergman, W.H. Benson. Bioavailability. Physical, chemical and biological interactions. CRC Press, Boca Raton, USA, 1994.

12. L. Posthuma, J. Notenboom, A. de Groot en W. Peijnenburg. Soil acidity as a major determinant of zinc partitioning and zinc uptake in two oligochaete worms (*Eisenia andrei* and *Enchytraeus crypticus*) exposed in contaminated fields soils. In: Sheppard S, Bembridge J, Holmstrup M, Posthuma L (eds) Advances in earthworm ecotoxicology. SETAC Press, Pensacola, FL USA, pp 111-127, 1998.
13. W. Peijnenburg, L. Posthuma, H. Eijsackers, H. Allen. A conceptual framework for implementation of bioavailability of metals for environmental management purposes. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 1997; Vol. 37, pp. 163-172.
14. M. McLaughlin. Normalisation of zinc toxicity data. A consultancy report to the International Zinc Association, CSIRO Land and Water, Australia. 1999. Consultancy Report 99-30.
15. E. Smolders. Risk Assessment Report Cadmium. Katholiek Universiteit Leuven, Heverlee. 2000.
16. M.H. Donker. Energy reserves and distribution of metals in populations of the isopod *Porcellio scaber* from metal-contaminated sites. *Funct. Ecol.*; 1992; 6:445-454.
17. H. Harmsen. Physiology of zinc in *Silene vulgaris*. Proefschrift, Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands, 1993.
18. L. Posthuma, R.F. Hogervorst, N.M. van Straalen. Adaptation to soil pollution by cadmium excretion in natural populations of *Orchesella cincta* (L.) (Collembola). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*; 1992; 22:146-156.
19. C.H. de Vos. Copper-induced oxidative stress and free radical damage in roots of copper tolerant and sensitive *Silene cucubalus*. Proefschrift, Vrije Universiteit, Amsterdam, 1991.
20. J. van Wensem, J.J. Vegter, N.M. van Straalen. Soil quality criteria derived from critical body concentrations of metals in soil invertebrates. *Appl. Soil Ecol.*; 1994; 1: 185-191.
21. N.M. van Straalen. Critical body concentrations: their use in bioindication. In N.M. Van Straalen and D.A. Krivolutsky, Eds., *Bioindicator systems for soil pollution*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 5-16, 1996.
22. N.F. Bendetti, C.J. Milne, D.G. Kinniburgh, W.H. van Riemsdijk, L.K. Koopal. Metal ion binding to humic substances: Application of the non-ideal competitive sorption model. *Environ. Science Technol.*; 1995; 29: 446-457.
23. N.M. de Rooy, M.P.J.M. Kroot. Mathematical simulation of biochemical processes in natural waters by the chemical model CHARON. WL/Delft Hydraulics. 1991. Manual R1310-10.

24. A.C. de Groot, W.J.G.M. Peijnenburg, M.A.G.T van den Hoop, R. Ritsema and R.P.M. van Veen. Heavy metals in Dutch field soils: an experimental and theoretical study on equilibrium partitioning. 1998. RIVM rapport 607220 001.
25. J.G. Otte, A. Tiktak en P.F.A.M. Römken, Adsorptievergelijkingen voor Cd, Cu, Pb en Zn in Nederlandse bodems. 1999. PGBO rapport.
26. W.J.M. van Tilborg. Fate of metals in soils, geochemical transformation and bioavailability of metals. The factor TIME. Contribution to the 'Workshop on the Atmospheric Transport and Fate of Metals', Antwerpen, 10-11 September 1998.
27. S.P. McGrath, A.M. Chaudri, K.E. Giller. Long-term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants. *J. Indust. Microbiol.*; 1995; 14:94-104.
28. M.M. Elgabaly. *Soil Sci.*; 1950; 85: 319.
29. K.G. Tiller, J.F. Hodgson. *Clays and Minerals*; 1962; 9:393.
30. N.R. Reddy, H.F. Perkins. *Soil Sci. Amer. Proc.*; 1974; 38:229.
31. R. Janssen, L. Posthuma, R. Baerselman, H. den Hollander, R. van Veen en W. Peijnenburg. Equilibrium partitioning of heavy metals in Dutch soils. II. Prediction of metal accumulation in earthworms. *Environ. Toxicol. Chem.*; 1997; 16: 2479-2488.
32. W. Peijnenburg, L. Posthuma, P. Zweers, R. Baerselman, A. de Groot, R. Van Veen, T. Jager. Prediction of metal bioavailability in Dutch field soils for the oligochaete *Enchytraeus crypticus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*; 1999; 43: 170-186.
33. W. Peijnenburg, R. Baerselman, A. de Groot, T. Jager, L. Posthuma en R. Van Veen. Relating environmental availability to bioavailability: soil-type dependent metal accumulation in the oligochaete *Eisenia andrei*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*; 1999; 44: 294-310.
34. W. Peijnenburg, R. Baerselman, A. de Groot, T. Jager, D. Leenders, L. Posthuma en R. Van Veen. Quantification of metal bioavailability for Lettuce (*Lactuca sativa* L) in field soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*; 2000; 39: 420-430.
35. M. Vijver, T. Jager, L. Posthuma en W. Peijnenburg. The impact of metal pools and soil properties on metal accumulation in *Folsomia candida* (Collembola). *Environ. Toxicol. Chem.*; 2001; 20: in press.
36. M. Vijver, T. Jager, L. Posthuma en W. Peijnenburg. Influences of soil characteristics on metal uptake from soils and mixtures of soils and sediments by the beetle larvae *Tenebrio molitor* (L.) (Col. Tenebrionidae); 2001; in preparation.

37. R. Janssen, W. Peijnenburg en M. van den Hoop. Equilibrium partitioning of heavy metals in Dutch soils. I. Relationships between metal partition coefficients and soil characteristics. *Environ. Toxicol. Chem.*; 1997; 16: 2470-2478.
38. S.P. McGrath. Bioavailability to soil microbes. In: Allen HE ed., *Bioavailability of metals in terrestrial ecosystems; Importance of partitioning for bioavailability to invertebrates, microbes and plants*. SETAC Press, Pensacola, FL, USA, 2000.
39. A.C.C. Plette, M.M. Nederlof, E.J.M. Temminghoff, W.H. Van Riemsdijk. Bioavailability of heavy metals in terrestrial and aquatic systems: a quantitative approach. *Environ. Toxicol. Chem.*; 1999; 18:1882-1890.
40. L.A. Oste, J. Dolfing, W.-C. Ma, T.M. Lexmond. Cadmium uptake by earthworms as related to the cadmium concentration in soil pore water. *Environ Toxicol Chem*; 2001; 20: in press.
41. E. Smit. Field relevance of the *Folsomia candida* soil toxicity test. Proefschrift, Vrije Universiteit Amsterdam, 1997.
42. C.A.M. Van Gestel, E.M. Dirven-Van Breemen, R. Baerselman. Accumulation and elimination of cadmium, chromium and zinc and effects on growth and reproduction in *Eisenia andrei* (Oligochaete, annelida). *Sci. Total Environ., Suppl.*; 1993; 585-597.
43. T. Crommentuijn. Sensitivity of soil arthropods to toxicants. Proefschrift, Vrije Universiteit Amsterdam, 1994.
44. W.G. Wallace, G.R. Lopez. Bioavailability of biologically sequestered cadmium and the implications of metal detoxification. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*; 1997; 147:149-157.
45. P. Zonneveld. De relatie tussen blootstellingsroute, cadmiumopname en cadmiumverdeling bij de pissebed *Porcellio scaber*. Stageverslag Afdeling Dierecologie, Vrije Universiteit Amsterdam, 1997.
46. C.A.M. van Gestel. Scientific basis for extrapolating results from soil ecotoxicity tests to field conditions and the use of bioassays. In N.M. van Straalen & H. Løkke (Eds.), *Ecological risk assessment of contaminants in soil*, Chapman & Hall, London, pp. 25-50, 1997.
47. L. Posthuma, C.A.M. van Gestel, C.E. Smit, D.J. Bakker, J.W. Vonk (Eds.) Validation of toxicity data and risk limits for soils: final report. 1998. RIVM rapport 607505004.
48. S. Griesbach, R.H. Peters, S. Youakim. An allometric model for pesticide accumulation. *Can. J. Fish Aquat Sci.*; 1982; 39:727-735.
49. R.V. Thomann, D.S. Szumski, D.M. DiToro. A food chain model in Western Lake Erie. *Water Res.*; 1974; 8:841-849.



50. L.A. Smock. The influence of feeding habits on whole-body metal concentrations in aquatic insects. *Freshwater Biol.*; 1983; 13:301-311.
51. M. Janssen. Turnover of cadmium through soil arthropods. Proefschrift, Vrije Universiteit Amsterdam, 1991.
52. A.C.C. Plette, M.M. Nederlof, E.J.M. Temminghoff, W.H. van Riemsdijk. Bioavailability of heavy metals in terrestrial and aquatic systems: a quantitative approach. *Environ. Toxicol. Chem.*; 1999; 18:1882-1890.

## Bijlage 1: Verzendlijst

1. Directoraat-Generaal Milieubeheer, Directie Stoffen, Afvalstoffen en Straling
2. Dr. M. van der Weiden – Ministerie van VROM, DGM/SAS, Den Haag
3. Dr. D. Jonkers – Ministerie van VROM, DGM/BWL, Den Haag
4. Dr. J. Appelman – CTB, Wageningen
5. Dr. F. van Assche – IZRO, Brussel
6. Drs. M. Beek – RIZA, Lelystad
7. Dr. A.C. Belfroid – IvM/VU, Amsterdam
8. Dr. W.F. ten Berge – VNO/NCW-BMRO, p.a. NV DSM/Afd. CVMGT, Heerlen
9. Dr. S. Boekhold – Ministerie van VROM, DGM/BWL, Den Haag
10. Dr. J. Bril – Alterra, Wageningen
11. Dr. T. Brock – Alterra, Wageningen
12. Dr. R. Comans – ECN Nederland, Petten
13. Dr. K. Delbeke – European Copper Institute, Brussel
14. Dr. J. Deneer – Alterra, Wageningen
15. Drs. S. Dogger – Gezondheidsraad, Den Haag
16. Dr. J. Faber – Alterra, Wageningen
17. Dr.Ir. C. van Gestel – Vrije Universiteit, Amsterdam
18. Drs. C. van de Guchte – RIZA/WSC, Lelystad
19. Dr. K.H. den Haan – VNO/NCW-BMRO, p.a. Shell International Chemical BV, Amsterdam
20. Dr. J. Harmsen – Alterra, Wageningen
21. Dr.Ir. A.J. Hendriks – RIZA/WSC, Lelystad
22. Drs. M. Koene – Stichting Natuur en Milieu, Utrecht
23. Dr. K. Legierse – RIKZ, Kamperland
24. Dr. A.M.C.M. Pijnenburg – RIKZ, Den Haag
25. Prof. Dr. W. van Riemsdijk – LUW, Vakgroep Bodemkunde en Plantevoeding, Wageningen
26. Dr. Ir. P. Römken – Alterra, Wageningen
27. Dr. N. de Rooij – WL | Delft Hydraulics, Delft
28. Dr. J. Smits – WL | Delft Hydraulics, Delft
29. Dr. E. Smolders – Katholiek Universiteit Leuven, Heverlee
30. Dr. E. Sneller – RIZA/WSC, Lelystad
31. Prof. Dr. N. van Straalen – Vrije Universiteit, Amsterdam
32. Dr. E. Temminghof – LUW, Vakgroep Bodemkunde en Plantevoeding, Wageningen
33. Dr. W.J.M. van Tilborg – VTBV, Rozendaal
34. Dr. W. Veerkamp – VNO/NCW-BMRO, p.a. OGCH/1, HSE management Shell Global Solutions, Den Haag
35. Dr. P. Vertegaal – Waterpakt, Harlingen
36. Ing. M. Vijver, MSc – Vrije Universiteit, Amsterdam
37. Dr.Ir. J.P.M. Vink – RIZA/WSC, Lelystad

38. Dr. Ir. W. de Vries – Alterra, Wageningen
39. Dr. H. Waeterschoot – Union Minière, Brussel
40. Dr. J. van Wensem – TCB, Den Haag
41. Dr. D. van Wijk – VNO/NCW-BMRO, p.a. AKZO NOBEL, Arnhem
42. Depot Nederlandse Publicaties en Nederlandse Bibliografie
43. Directie RIVM
44. Directeur sector 3/4, Dr.Ir. G. de Mik
45. Hoofd CSR, Dr. W.H. Könemann
46. Hoofd Laboratorium ECO, Drs. J.H. Canton
47. Dr. P. van Beelen – RIVM/ECO
48. Dr. J. Bodar – RIVM/CSR
49. Dr. J. de Bruijn – RIVM/CSR
50. Ing. L. Dirven – RIVM/ECO
51. Dr. R. Franken – RIVM/LBG
52. Dr. B. van der Heijdt – RIZA, Dordrecht
53. Dr. M. Janssen – RIVM/LSO
54. Ir. J. Lijzen – RIVM/LBG
55. Dr. D. van de Meent – RIVM/ECO
56. Dr. J. Struijs – RIVM/ECO
57. Dr. F. Swartjes – RIVM/LBG
58. Dr. A. Tiktak – RIVM/LBG
59. Drs. T. Traas – RIVM/CSR
60. Dr. E. Verbruggen – RIVM/CSR
61. Dr. A. Van Wezel – RIVM/CSR
62. SBD/Voorlichting & Public Relations
63. Bureau Rapportenregistratie
64. Bibliotheek RIVM
65. – 68. Auteurs
69. – 70. Bureau Rapportenbeheer
71. – 80. Reserve exemplaren