

RIVM rapport 711701038/2005

**Naar een richtlijn voor locatiespecifieke ecologische  
risicobeoordeling met de TRIADE**

M. Rutgers, A.J. Schouten, E.M. Dirven-van Breemen,  
P.F. Otte, F.A. Swartjes, M. Mesman

Contact:

Miranda Mesman

Laboratorium voor Ecologische Risicobeoordeling

Miranda.Mesman@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van het Ministerie van VROM,  
Directoraat-Generaal Milieubeheer, Directie Bodem, Water en Landelijk Gebied (BWL), in  
het kader van project 711701, Risico's in relatie tot bodemkwaliteit.



## Rapport in het kort

### Naar een richtlijn voor locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling met de TRIADE

Bij ernstige gevallen van (water)bodemverontreiniging kan momenteel met de ‘SaneringsUrgentie Systematiek’ (SUS) de saneringsurgentie worden bepaald. Locatiespecifieke *ecologische* risico’s zijn een onderdeel van de methodiek. Deze worden bepaald op basis van de aanwezigheid van verontreinigende stoffen, de gevoeligheid van het ecosysteem in relatie tot het bodemgebruik, en de omvang van het verontreinigde oppervlak. Momenteel wordt het bodembeleid herzien. In dit kader is de afgelopen jaren gewerkt aan de ontwikkeling en validatie van de zogenaamde TRIADE voor ecologische risicobeoordeling van bodemverontreiniging. Met de TRIADE worden de risico’s geschat op basis van drie verschillende invalshoeken, namelijk 1. de aanwezigheid van verontreiniging (het chemische spoor), 2. de resultaten van bioassays met monsters van de locatie (het toxische spoor), en 3. ecologische veldwaarnemingen (het ecologische spoor). Integratie van de resultaten van deze drie onafhankelijke TRIADE-sporen levert een meervoudige bewijsvoering op voor de risicoschatting (*‘multiple weight of evidence’*). Hierdoor worden de onzekerheden in de risicoschatting sterk gereduceerd. In dit rapport wordt de TRIADE uitgelegd, en is een voorlopige richtlijn uitgewerkt voor toepassing van een eenvoudige TRIADE voor veel voorkomende gevallen van bodemverontreiniging, die qua complexiteit en kosten vergelijkbaar is met SUS.

Trefwoorden:

TRIADE, bodemverontreiniging, ecologische risico’s, locatiespecifiek, methodiek



## **Abstract**

### **Towards a guideline for site-specific risk assessment using TRIAD**

At present, the Remediation Urgency Method can be used in the Netherlands to determine the urgency of remediation for seriously contaminated sites. This methodology includes a site-specific ecological risk assessment based on the presence of contaminants, the sensitivity of the ecosystem with respect to land use, and the dimensions of the contaminated area. At this moment the policy on soil quality assessment is under revision. In this framework the so-called TRIAD for site-specific ecological risk assessment of soil contamination has been developed and validated. Risk assessment with the TRIAD is based on three different angles: 1. the presence of contaminants (chemical angle), 2. results from bioassays using samples from the site (toxicological angle) and 3. ecological field observations (ecological angle). Integration of the results from the three TRIAD angles provides a multiple weight of evidence in the risk assessment, which strongly reduces uncertainties in the ecological risk assessment. A preliminary guideline for a simple TRIAD is also presented here. The costs of the assessment and the complexity of the guideline are of the same magnitude as the current methodology to determine the urgency of remediation.

Keywords:

TRIAD, soil contamination, ecological risks, site-specific, methodology



## Voorwoord

In *wetenschappelijk opzicht* is het een uitdaging om in geval van bodemverontreiniging een uitspraak te kunnen doen over het functioneren (of de aantasting) van het ecosysteem op een specifieke locatie. De methodiek voor bepaling van het locatiespecifieke ecologische risico, zoals gepresenteerd in de SaneringsUrgentie Systematiek (SUS; Notenboom et al. (1995)), is gebaseerd op totaalgehalten in de bodem en de ecologische gevoeligheid van het betreffende bodemgebruik. Deze methodiek is weliswaar eenvoudig toe te passen, maar geeft slechts een indicatie van het daadwerkelijke ecologische risico op een specifieke locatie.

*Beleidsmatig* is er behoefte aan een protocol waarmee gefundeerd, en bij voorkeur op uniforme wijze, een uitspraak kan worden gedaan over het functioneren (of de aantasting) van het ecosysteem op een specifieke locatie. In december 2003 verscheen de Beleidsbrief Bodem, waarin vermeld is dat het bodembeleid gewijzigd zal worden. In deze beleidsbrief wordt melding gemaakt van een meer duurzame visie op het bodembeleid, waarbij het ecologisch functioneren beoordeeld zal worden op basis van chemische, fysische en biologische parameters.

Sinds midden jaren negentig werd een TRIADE-methodiek ontwikkeld door het RIZA voor de bepaling van locatiespecifieke ecologische risico's in oppervlaktewater en sedimenten. Sinds 1997 wordt op het RIVM gewerkt aan de ontwikkeling van de TRIADE voor toepassing bij terrestrische bodems. De procedure is opgebouwd uit lagen van elkaar in complexiteit opvolgende onderzoeksmethodieken, en komt tegemoet aan een ecologische beoordeling van een verontreinigingssituatie op basis van 'chemische, fysische en biologische parameters'.

De TRIADE werd in de periode 1999-2003 in een drietal fasen op in totaal zeven locaties getest op mogelijkheden voor praktische uitvoering. Bovendien werd in 2004 een RIVM brainstormbijeenkomst georganiseerd en de TRIADE aan het grote publiek gepresenteerd tijdens een NARIP-bijeenkomst<sup>1</sup>. Op basis van de ervaringen uit de locatiestudies en de conclusies uit de brainstorm- en NARIP-bijeenkomsten werd de methodiek aangepast. De onderhavige rapportage is een eerste opzet van een protocol, waarmee de TRIADE op termijn door derden kan worden toegepast. Mogelijk kan de TRIADE in het nieuwe bodembeleid onderdeel uit gaan maken van het zogenaamde Saneringscriterium en/of van een methodiek welke kan worden gebruikt om Lokale BodemAmbitieniveaus af te leiden. Afhankelijk van de formele positionering van de TRIADE zal de richtlijn in overleg met 'het beleid' in een volgende fase in een op het specifieke doel afgestemde vorm worden gegoten.

---

<sup>1</sup> NARIP = Nationaal risicoplatform bodemverontreiniging





# Inhoud

<b>SAMENVATTING</b>	<b>13</b>
<b>1 INLEIDING</b>	<b>15</b>
1.1 Wet bodembescherming	15
1.2 De TRIADE	15
1.3 Toepassingsgebied	17
1.4 Leeswijzer	18
<b>2 BESLISSEN TOT DE UITVOERING VAN DE TRIADE</b>	<b>19</b>
2.1 Inleiding	19
2.2 Uitgangspunten	19
2.3 Situaties voor toepassing van de TRIADE	21
2.3.1 Geval van een handelingsnoodzaak	22
2.3.2 Geval van bodemverontreiniging, maar geen handelingsnoodzaak	24
2.3.3 Geval van een verontreiniging met een niet-genormeerde stof	25
2.3.4 Geval van waarneembare ecologische schade	26
2.4 Resumé	26
<b>3 LAAGSGEWIJZE AANPAK EN RISICOHYPOTHESE</b>	<b>29</b>
3.1 Onderzoeksfasen en diepgang	29
3.2 Conceptueel model en risicohypothesen	29
<b>4 BASISBENADERING</b>	<b>31</b>
4.1 Bodemgebruik: eerste stap van de Basisbenadering	33
4.2 Tweede stap: ecologische aspecten, conceptueel model en risicohypothesen	33
4.3 Derde stap; het TRIADE-onderzoek	37

<b>5</b>	<b>PRAKTISCHE UITVOERING VAN DE TRIADE</b>	<b>39</b>
5.1	Inleiding	39
5.2	Achtergronden van een TRIADE-onderzoek	39
5.2.1	Het voortraject	39
5.2.2	Principe van de TRIADE	40
5.3	Uitwerking van de TRIADE	43
5.3.1	Laag 1	43
5.3.2	Laag 2 en verder	45
5.4	Berekening van de effecten van verontreiniging	49
<b>6</b>	<b>TOETSING VAN DE RESULTATEN VOOR RISICOBEOORDELING</b>	<b>51</b>
6.1	Inleiding	51
6.2	Risicobeoordeling met de 1 <sup>e</sup> onderzoekslaag	51
6.3	Risicobeoordeling bij opvolgende onderzoekslagen	54
6.4	Schatten van geïntegreerde effecten, schalen en wegen	56
6.4.1	Chemie	56
6.4.2	Toxicologie	57
6.4.3	Ecologie	57
6.4.4	Integratie TRIADE-sporen	59
<b>7</b>	<b>CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN</b>	<b>61</b>
7.1	Conclusies	61
7.2	Aanbevelingen	62
	<b>BIJLAGE: MEET- EN REKENINSTRUMENTEN</b>	<b>63</b>
	<b>Bijlage 1. Algemeen</b>	<b>63</b>
	1.1 Doel van de test en procedure voor toepassing	63
	1.2 Ecologische relevantie	63
	1.3 Gevoeligheid	64
	1.4 Betrouwbaarheid	64
	1.5 Reproduceerbaarheid	64
	1.6 Kwantificering	65
	1.7 Resultaten schalen naar ecologische effecten	65
	1.8 Wegen van testresultaten	67
	1.9 Aanwijzingen bij de selectie van meet- en rekeninstrumenten	68
	<b>Bijlage 2 Chemie</b>	<b>69</b>
	2.1 Toxische Druk	69
	2.2 SSD, PAF, biobeschikbaarheid, bioaccumulatie en doorvergiftiging	72

---

<b>Bijlage 3 Toxicologie: bioassays in de TRIADE</b>	<b>75</b>
3.1 Algemene aandachtspunten bij toepassing van bioassays	75
3.2 MicrotoxTM: bepaling van de remming op de lichtemissie van <i>Vibrio fischeri</i>	77
3.3 Pulse Amplitude Modulation (PAM) algentoets	79
3.4 Zaadkieming en groeitest	81
3.5 Potwormen overleving, groei en reproductie test	83
3.6 Regenwormen overleving, groei en reproductie	85
<b>Bijlage 4 Ecologie</b>	<b>87</b>
4.1 Aaltjes (nematoden)	89
4.2 Community-level physiological profiling met behulp van BIOLOG platen	91
4.3 Pollution Induced Community Tolerance met behulp van BIOLOG	93
4.4 Floristische inventarisaties (hogere planten, schimmels, korstmossen en mossen): kwalitatieve beoordeling	95
4.5 Vegetatie inventarisaties (hogere planten, schimmels, korstmossen en mossen): kwantitatieve beoordeling	97
<b>LITERATUUR</b>	<b>99</b>



# Samenvatting

## Achtergronden

De in deze rapportage beschreven TRIADE-methodiek is ontwikkeld voor de locatie-specifieke beoordeling van ecologische risico's ten gevolge van bodemverontreiniging. De methodiek heeft twee kenmerken. Ten eerste worden ecologische risico's beoordeeld via drie 'sporen': chemie, toxicologie en ecologie. Integratie van de drie sporen bij de risico-beoordeling leidt tot een 'meervoudige bewijsvoering'. Dit heeft tot gevolg dat de onderbouwing en betrouwbaarheid van de beoordeling met de TRIADE sterk verbeterd is ten opzichte van de beoordelingsmethodiek, zoals opgenomen in de SaneringsUrgentie Systematiek (SUS). Ten tweede is de TRIADE in onderzoekslagen opgebouwd. In iedere hogere laag neemt de complexiteit, de realiteit en de mate van locatiespecificiteit toe. Een gevolg is dat ook de benodigde inspanning en kosten bij toepassing van de hogere lagen toenemen. Het voordeel van deze laagsgewijze aanpak is dat in veel gevallen de eerste eenvoudige beoordeling voldoende is en er alleen een grote inspanning hoeft te worden verricht in de hogere lagen indien dit echt nodig is.

## Inhoud

In deze rapportage is een eerste opzet van een richtlijn opgesteld, waarmee de locatiespecifieke ecologische risico's met behulp van de TRIADE bepaald kunnen worden. De richtlijn bevat informatie over mogelijke aanleidingen voor een risicobeoordeling, achtergronden van de TRIADE, en de opbouw van de TRIADE in lagen (hoofdstuk 5):

- Laag 1 bevat een eenvoudige TRIADE, die voor de meeste locaties voldoende onderscheidend vermogen oplevert (kosteneffectief). De richtlijn beschrijft de praktische uitvoering van de TRIADE in de eerste onderzoekslaag op een min of meer gestandaardiseerde wijze: de *chemische beoordeling* is gebaseerd op totaalgehalten, de *toxicologische beoordeling* wordt uitgevoerd met eenvoudige (kortdurende) acute testen en de *ecologische beoordeling* vindt plaats op basis van expert judgement, snelle veldinventarisatie of simpele bodembioologische waarnemingen. Qua complexiteit is deze laag vergelijkbaar met de beoordelingsmethode zoals opgenomen in de SaneringsUrgentie Systematiek (SUS).
- Laag 2 en verder bevat een omschrijving voor toepassing van de TRIADE in meer complexe situaties. Ter ondersteuning is in de richtlijn de Basisbenadering beschreven. Voor de hogere onderzoekslagen is geen gestandaardiseerd stramien voorgeschreven, maar is een globale procedure voorgesteld, waarbinnen keuzen kunnen worden gemaakt voor testen en beoordelingsmethoden binnen alle drie de sporen. Bovendien zijn voorbeelden van een concrete uitwerking van de TRIADE in de hogere lagen gegeven. In de richtlijn is voor ieder van de drie sporen (chemie, toxicologie en ecologie) een overzicht opgenomen van welke 'instrumenten' relevant zijn voor verschillende vormen van bodemgebruik. Bovendien zijn deze instrumenten nader omschreven in een bijlage.

Aansluitend op de beschrijving van het instrumentarium via de twee lagen wordt de wijze de beoordeling en toetsing beschreven (hoofdstuk 6). Ten behoeve van de integratie van de beoordelingen uit de drie sporen en de bijbehorende toetsing is een matrix opgesteld, die voor

de drie sporen en een aantal onderzoekslagen effectscores weergeeft. Tevens zijn de effectscores in deze matrix geïntegreerd, op basis waarvan een *overall* uitspraak over de ecologische risico's ten gevolge van bodemverontreiniging te geven is, voor een specifieke locatie. Voor laag 1 (eenvoudige beoordeling) is gebruik gemaakt van de uitgangspunten voor toetsing bij SUS. Voor laag 2 en verder zijn geen gedetailleerde richtlijnen opgesteld.

### **Nut voor het beleid**

De TRIADE kan geschikt worden gemaakt als instrument voor de ondersteuning van het nieuwe bodembeleid, zoals geformuleerd in de Beleidsbrief Bodem van december 2003. De methodiek kan onderdeel uit gaan maken van het 'Saneringscriterium' of van een procedure welke kan worden gebruikt om 'Lokale BodemAmbitioniveaus' af te leiden. Voor dergelijke belangrijke toepassingen is in deze rapportage een eerste opzet van een richtlijn gegeven. Afhankelijk van de formele positionering van de TRIADE zal de richtlijn in overleg met 'het beleid' in een volgende fase in een op het specifieke doel afgestemde vorm worden gegoten (bijvoorbeeld in de vorm van een *Decision Support System*, of een protocol). De richtlijn komt tevens tegemoet aan de veelgehoorde wens van het bevoegde gezag, om inzicht te verkrijgen in de mogelijkheden voor toepassing en interpretatie van de resultaten van de TRIADE door derden. Tenslotte kan de TRIADE in meer algemene zin worden gebruikt om de kansen voor specifieke vormen van bodemgebruik te onderzoeken (bijvoorbeeld voor het bodemgebruik 'natuur' op voormalige landbouwgronden).

### **Oproep tot reacties**

De in dit rapport beschreven opzet voor een richtlijn ten behoeve van de locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling van bodemverontreiniging met behulp van de TRIADE is nog niet definitief. De richtlijn zal in de nabije toekomst verder ontwikkeld worden, samen met andere partijen (kennisinstituten, adviesbureaus, universiteiten), mede binnen het platform ecologische risicobeoordeling (PERISCOOP), zowel nationaal als internationaal (via bijvoorbeeld internationale onderzoeksprogramma's zoals LIBERATION, ERAMANIA). Bovendien zal de praktische invulling van de richtlijn worden getest met medewerking van een aantal potentiële gebruikers van de TRIADE. De auteurs nodigen iedereen uit om op de huidige versie van de richtlijn te reageren. Hierbij zijn zowel de wetenschappelijke uitwerkingen, alsmede de mogelijkheden voor uniforme en pragmatische toepassing van belang.

# 1 Inleiding

## 1.1 Wet bodembescherming

De Wet bodembescherming (Wbb) vormt de basis voor het beleidskader rond de beoordeling van bodemverontreiniging. In de Beleidsbrief Bodem (VROM, 2003) is aangegeven dat deze sectorale wet in de nabije toekomst zal worden vervangen door eenvoudiger, met de wet Milieubeheer, geïntegreerde wetgeving. Het huidige bodembeleid richt zich op bescherming en herstel van de bodemkwaliteit. Het nieuwe bodembeleid is gericht op een duurzaam gebruik met behoud van de gebruikswaarde van de bodem. Deze waarde heeft een economische, sociale en ecologische dimensie. De beoordeling van de ecologische waarde wordt gebaseerd op chemische, fysische en biologische gegevens.

Hiermee wordt onderkend dat een goed functionerend bodemecosysteem belangrijk is voor de maatschappij. Bij de vaststelling van eventuele risico's dient men rekening te houden met het (toekomstig) gebruik en de lokale of regionale eigenschappen van de bodem.

Bodembeheer en risico's zullen op elkaar worden afgestemd. De beleidskaders voor het beheer van bodemverontreiniging worden eenvoudiger en consistent. De lokale overheid krijgt een belangrijke rol bij het beheer van de bodem, inclusief de bodemverontreiniging. Met de aandacht voor het ecologisch functioneren van de bodem, de locatiespecifieke benadering en de mogelijkheid voor gebiedsgerichte oplossingen is een goede beoordeling van het ecologische functioneren van (verontreinigde) bodem belangrijk. De TRIADE is een instrumentarium voor een geïntegreerde ecotoxicologische beoordeling van bodemverontreiniging. Met de TRIADE wordt het functioneren van het bodemecosysteem tastbaar met een instrumentarium op maat voor de betreffende locatie. Bovendien doet de TRIADE recht aan de complexiteit van het bodemecosysteem. De TRIADE wordt al af en toe gebruikt voor de beoordeling van de ecologische risico's van bodemverontreiniging. De verwachting is dat dit zal toenemen.

## 1.2 De TRIADE

Oorspronkelijk werd de TRIADE ontwikkeld voor de vaststelling van het locatiespecifieke ecologische risico van (water)bodemverontreiniging (Den Besten et al., 1995). Vanaf 1997 is op het RIVM gewerkt aan de ontwikkeling van de TRIADE voor een dergelijke toepassing voor terrestrische bodems (zie onder andere Rutgers et al., 2005). De TRIADE-benadering is een verbetering van het ecologische onderdeel van de systematiek voor de bepaling van de urgentie van bodemsanering (Koolenbrander, 1995). Bij de TRIADE wordt uitgegaan van het risico van bodemverontreiniging voor een set ecologische aspecten van het bodemgebruik. Deze aspecten worden op drie aanvullende manieren beoordeeld (figuur 1.1), namelijk:

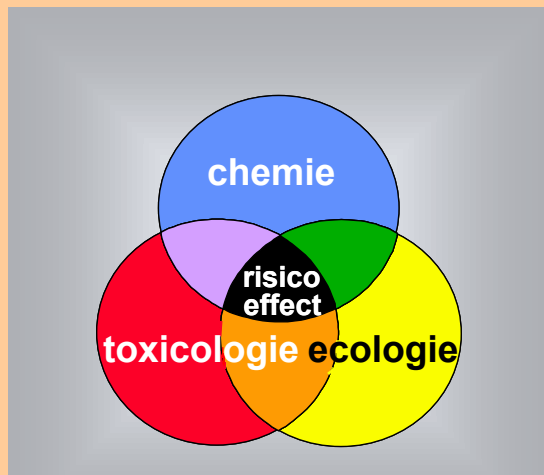
- Chemie: een beoordeling op basis van de aanwezigheid van de verontreiniging in de bodem,
- Toxicologie: een beoordeling op basis van de meetbare toxiciteit in monsters van de verontreinigde locatie, en,

- Ecologie: een beoordeling op basis van ecologische verschillen tussen de verontreinigde locatie en een schone locatie.

Na combinatie of integratie van de resultaten van deze drie typen onderzoeken wordt het risico vastgesteld.

### De TRIADE

De drie invalshoeken van de TRIADE. Door de kennis uit drie verschillende disciplines te combineren en te integreren, worden de onzekerheden over de ecologische risico's van de bodemverontreiniging op een pragmatische manier gereduceerd. De aanname daarbij is dat een beperkte inzet op de verschillende TRIADE-sporen een grotere onzekerheidsreductie bewerkstelligt dan een in totale omvang gelijke inzet op slechts één spoor van de TRIADE (bijvoorbeeld toepassing van de SaneringsUrgentie Systematiek (SUS)).



*Figuur 1.1 Schematisch overzicht van de TRIADE.*

De aanname bij toepassing van de TRIADE is dat een beperkte inzet op alle TRIADE sporen (chemie, toxicologie, ecologie) een betrouwbaarder resultaat oplevert, dan een in totale omvang gelijke inzet op bijvoorbeeld de bodemchemie. Of, in andere woorden, ‘drie weten meer dan één’. Op deze manier worden onzekerheden, die aan elke risicobeoordeling kleven, op een pragmatische wijze gereduceerd.

De uitwerking van de TRIADE berust op het principe van de meervoudige bewijsvoering zoals dat toegepast wordt bij de uitvoering van de rechterlijke macht. Wanneer in het geval van de TRIADE drie onafhankelijke disciplines, de drie sporen van de TRIADE (chemie, toxicologie, en ecologie), tot dezelfde conclusie komen over het ecologische risico, dan heeft dat een duidelijke betekenis, en is een groot deel van de onzekerheid weggenomen. Een rechtbank zal ook vaak om meervoudige bewijsvoering vragen, en niet vertrouwen op een enkel bewijs.



Een ander belangrijk element bij de toepassing van de TRIADE is de laagsgewijze aanpak (in het Engels: ‘*tiers*’). Dit biedt de mogelijkheid om veel voorkomende gevallen met een eenvoudig instrumentarium te beoordelen. Daar waar de onzekerheden groot zijn, bijvoorbeeld bij grote locaties of bij complexe en gevoelige ecosystemen, zal een aanvullend instrumentarium ingezet moeten worden. Met de laagsgewijze aanpak kan onnodig of te duur onderzoek voorkomen worden. De laagsgewijze aanpak wordt apart behandeld in hoofdstuk 3.

Dit rapport bevat een richtlijn of een gids voor het opzetten van een ecologische risicobeoordeling van een verontreinigde locatie volgens de TRIADE. De TRIADE-benadering is gestructureerd (gestandaardiseerd) van opzet, maar kan ingevuld worden met verschillende technieken. Dit betekent dat slechts op hoofdlijnen aangegeven wordt hoe de TRIADE moet worden opgezet, en aan welke onderdelen aandacht geschonken dient te worden. Waar mogelijk zijn exacte aanwijzingen gegeven. Uitvoering van de hogere lagen van TRIADE kan niet zonder de noodzakelijke deskundigheid. Voor grote of complexe verontreinigingssituaties is de sturing van een begeleidingscommissie wenselijk. Het uitgangspunt voor een locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling is het bodemgebruik. Het bodemgebruik, bodemtype en de omvang van de (verontreinigde) locatie zijn bepalend voor de ecologische aspecten die van belang zijn voor de risicobeoordeling. Het spreekt voor zich dat natuurontwikkeling of landbouw andere eisen stelt aan de bodem dan een bedrijventerrein. Voor de eenvoudige, eerste laag in de TRIADE wordt in deze richtlijn een suggestie gedaan voor de ecologische aspecten per grove typering van het bodemgebruik (natuur, landbouw, etc.). Het type verontreiniging, het bodemtype en het type ecosysteem bepalen vervolgens welke instrumenten (*tools*) het meest geschikt zijn om toegepast te worden binnen de TRIADE.

Voor grotere locaties, en bij complexe of gevoelige ecosystemen (sommige natuur- en landbouwgebieden) is een aantal opeenvolgende stappen nodig, zoals al geformuleerd werd bij de Basisbenadering (Rutgers et al., 1998a; Rutgers et al., 2000b). Met de Basisbenadering kan de koppeling worden gemaakt tussen het bodemgebruik, een set met ecologische aspecten, én de instrumenten waarmee beoordeeld kan worden of het bodemgebruik nu en in de toekomst tot zijn recht komt. De Basisbenadering wordt in hoofdstuk 4 behandeld.

### 1.3 Toepassingsgebied

Wel of niet saneren was en is vaak de afweging bij een risicobeoordeling. Er is echter een scala aan afwegingen mogelijk waarbij een risicobeoordeling wenselijk is, zoals:

- afstemmen van gebruiksmogelijkheden op de beperkte bodemkwaliteit;
- verandering van bodemgebruik;
- bodemmanagement gericht op monitoring en beheer van de risico’s;
- bodemmanagement gericht op duurzame verbetering van de bodemkwaliteit;
- inrichting van een locatie of gebied, met als doel de gebruiksmogelijkheden optimaal te benutten;

- inschatting van risico's op termijn als gevolg van wijzigingen in locatiespecifieke omstandigheden door veranderingen in bodemgebruik, bodembeheer, of milieubelasting en andere milieufactoren.

Deze afwegingen sluiten goed aan bij het voornemen van VROM om het duurzaam bodembeheer verder te ontwikkelen (VROM, 2003).

## 1.4 Leeswijzer

Dit rapport geeft de eerste opzet voor een richtlijn voor de locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling van bodemverontreiniging. In de praktijk zal blijken of deze richtlijn en de TRIADE voldoen. In dit rapport worden verschillende stappen beschreven om een instrumentarium samen te stellen voor de risicobeoordeling in een geval van bodemverontreiniging op basis van de TRIADE-benadering.

- In hoofdstuk 1 worden de ontwikkelingen in het bodembeleid beschreven en de achtergrond van de TRIADE-benadering.
- Hoofdstuk 2 beschrijft de stappen die de aanleiding kunnen geven om een risicobeoordeling uit te voeren en de TRIADE toe te passen. De relaties met het Oriënterende en Nader (bodem)Onderzoek, en andere *triggers* worden behandeld.
- In hoofdstuk 3 wordt de laagsgewijze aanpak van de TRIADE gepresenteerd. Een laagsgewijze aanpak is noodzakelijk om efficiënt met beperkte middelen om te gaan, en onnodig onderzoek te vermijden. Vervolgens wordt kort ingegaan op de risicohypothese; dit is een werkwijze voor eenvoudige gevallen, maar kan aangepast worden aan de locatiespecifieke omstandigheden bij grote of complexe gevallen van bodemverontreiniging.
- In hoofdstuk 4 bevat een samenvatting van de zogenaamde 'Basisbenadering' opgenomen voor de wat grotere of ingewikkelde gevallen van bodemverontreiniging. Deze werkwijze kan gebruikt worden om uitgaande van het bodemgebruik en andere locatiespecifieke factoren tot een passend beoordelingsinstrumentarium te komen.
- Hoofdstuk 5 geeft aanwijzingen voor de samenstelling van een instrumentarium voor de locatiespecifieke toepassing van de TRIADE. Overwegingen worden gegeven om uit een scala aan mogelijke instrumenten (uit de TRIADE-gereedschapskist) juist die te kiezen die voor een specifieke locatie en bodemverontreiniging het meest geëigend is. Het bodemgebruik vormt het vertrekpunt, terwijl bodemtype, omvang, type en ernst van de verontreiniging, en het type ecosysteem modificerende factoren zijn die de keuze voor TRIADE-instrumenten kunnen beïnvloeden. Een beschrijving van mogelijke TRIADE-instrumenten is te vinden in de bijlagen.
- In hoofdstuk 6 wordt de methode gepresenteerd om de resultaten van het onderzoek schematisch weer te geven, te integreren, en te toetsen. Deze stap vormt de schakel tussen het TRIADE-onderzoek en de feitelijke risicobeoordeling.
- In hoofdstuk 7 is een aantal conclusies en aanbevelingen opgenomen en wordt verzocht de ervaringen met de Basisbenadering en de TRIADE te delen zodat er nieuwe richtlijnen opgesteld kunnen worden met een groter draagvlak.

## 2 Beslissen tot de uitvoering van de TRIADE

### 2.1 Inleiding

Voorafgaand aan de uitvoering van een locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling volgens de TRIADE-benadering is het van belang te beoordelen of een dergelijk onderzoek wenselijk en uitvoerbaar is. Hiermee wordt voorkomen dat een relatief duur instrument wordt ingezet, terwijl bijvoorbeeld op basis van andere risico's al een beslissing kan worden genomen die de ecologische risico's beïnvloedt.

Deze afweging wordt bij voorkeur op een transparante wijze verricht met behulp van een korte beslisboom. De gegevens uit het bodemkundig vooronderzoek (Oriënterend- en Nader Onderzoek) zijn hierbij het vertrekpunt. Op deze wijze krijgt men niet alleen antwoord op de vraag of het zinvol is een TRIADE uit te voeren, tevens krijgt men zicht op enkele uitgangspunten en doelstellingen die later met de Basisbenadering verder worden geconcretiseerd.

### 2.2 Uitgangspunten

Uitgangspunt voor een locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling volgens de TRIADE (hierna kortweg 'de TRIADE') is de beschikbare informatie uit het onderzoek naar de bodemverontreiniging. Dit onderzoek wordt gefaseerd uitgevoerd. De eerste fase betreft de uitvoering van een Verkennend en Oriënterend Onderzoek (VO en OO). Met dit bodemonderzoek kan het vermoeden van (ernstige) bodemverontreiniging worden bevestigd. Is dit het geval dan volgt het Nader Onderzoek (NO) waarmee de aard van de verontreiniging, de concentratieniveaus en de omvang worden vastgesteld. Hoe dit onderzoek gefaseerd kan worden uitgevoerd staat beschreven in de protocollen voor het Oriënterend Onderzoek en het Nader Onderzoek deel 1 (Lamé en Bosman, 1993).

Indien er op basis van het NO een handelingsnoodzaak<sup>2</sup> is, dient een locatiespecifieke risicobeoordeling te volgen. Dit betreft de beoordeling van de werkelijke risico's voor de mens, voor ecosystemen en het risico van verspreiding van verontreinigingen op de locatie. Voorafgaand aan de risicobeoordeling is het geboden de verontreinigingssituatie globaal te karakteriseren. Hierbij zijn er drie mogelijkheden.

- a) De verontreiniging bevindt zich in de onverzadigde zone (contactzone). Niet-acceptabele ecologische risico's kunnen op voorhand niet worden uitgesloten.
- b) Het betreft een grondwaterverontreiniging. De verontreiniging is potentieel mobiel en bevindt zich overwegend beneden het freatisch vlak.

---

<sup>2</sup> Het huidige beleid spreekt nog van saneringsnoodzaak. Er is sprake van een saneringsnoodzaak indien is vastgesteld dat de gemiddelde concentratie van een bodemvolume van 25 m<sup>3</sup> (grond of sediment) of 100 m<sup>3</sup> (grondwater) de interventiewaarde overschrijdt. Volgens het nieuwe bodembeleid is er van een saneringsnoodzaak in deze fase nog geen sprake. Wel dienen de risico's te worden vastgesteld waarna een saneringsafweging plaats vindt.

c) Het betreft een waterbodemonverontreiniging. De beoordeling van sedimenten dient plaats te vinden volgens de Richtlijn Nader Onderzoek voor Waterbodems (Van Elswijk et al., 2002). Hieronder vallen ook de uiterwaarden.

De TRIADE, zoals in deze richtlijn is beschreven, richt zich voornamelijk op verontreinigingssituatie a. De beoordeling van de ecologische risico's in geval van grondwaterverontreiniging is in principe wel mogelijk, maar hiermee is nog geen ervaring opgedaan. Bij een dergelijke verontreinigingssituatie kan de beoordelaar zich het beste richten op het risico van verspreiding waarna een eventuele saneringsafweging kan plaatsvinden volgens ROSA, het praktijkdocument voor het maken van keuzes bij mobiele verontreinigingen (Slenders et al., 2004). In geval van een waterbodemonverontreiniging kan men het beste terugvallen op de Richtlijn Nader Onderzoek voor Waterbodems (Van Elswijk et al., 2002).

Uitgaande van verontreinigingssituatie 'a' (eventueel 'b') en de informatie van het bodemkundig onderzoek (het Nader Onderzoek deel 1) kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

- A. *Er is een geval van bodemonverontreiniging met een handelingsnoodzaak (conclusie NO)*
- B. *Er is een geval van bodemonverontreiniging maar geen handelingsnoodzaak (conclusie NO)*

Bovendien kan men te maken hebben met een verontreiniging van een zogenaamde niet-genormeerde stof. Ook dit kan een *trigger* zijn voor toepassing van de TRIADE

- C. *Er is een geval van een verontreiniging met een niet genormeerde stof*

Als laatste kan er sprake zijn van een verdachte locatie waarbij duidelijk waarneembare ecologische effecten binnen of buiten de locatie zijn geconstateerd.

- D. *Er is een geval van waarneembare ecologische schade*

Bovenstaande vier *triggers* zijn aanleiding om een TRIADE te overwegen. In paragraaf 2.3 wordt het beslisschema gegeven waarmee wordt bepaald of een TRIADE daadwerkelijk dient te worden opgestart. Onderstaande overwegingen zijn hierbij impliciet meegenomen.

– *Maatschappelijke ontwikkelingen*

Wanneer door maatschappelijke ontwikkelingen een kwaliteitsverbetering wenselijk en haalbaar is, kan van een specifieke risicobeoordeling worden afgezien, één en ander naar het oordeel van het bevoegde gezag.

– *Humaan risico en het risico van verspreiding*

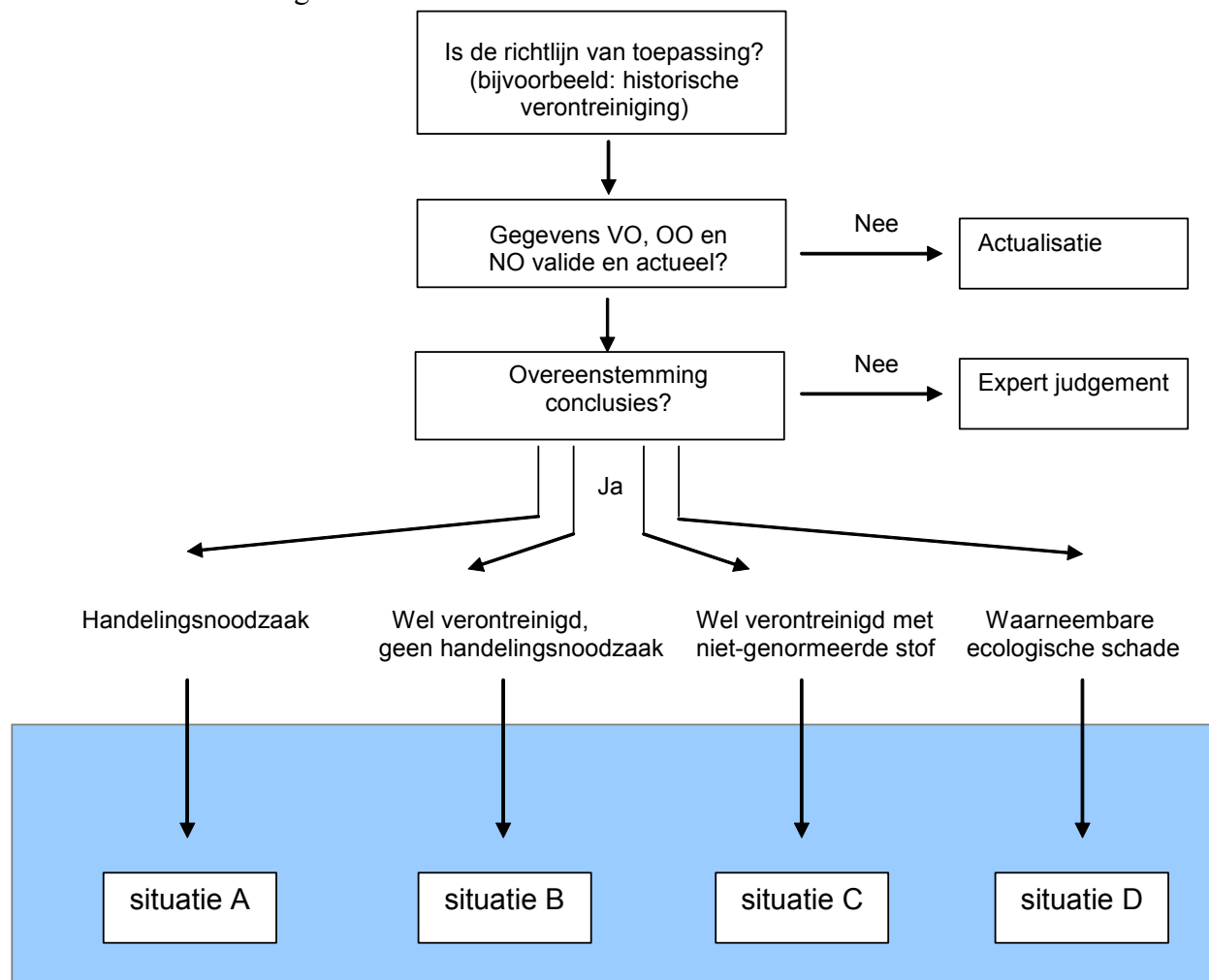
Indien er een risico is voor de mens of een onacceptabel risico ten gevolge van verspreiding waardoor een kwaliteitsverbetering, onafhankelijk van ecologische risico's, noodzakelijk is, kan van een TRIADE worden afgezien.

– *Vaststelling van het saneringsdoel*

De saneringsdoelstelling voor de bovengrond wordt door het bevoegde gezag bodemsanering voor het betreffende gebied vastgesteld. Het wegnemen van humane, ecologische en verspreidingsrisico's is hierbij een randvoorwaarde. Ook voor de vaststelling van het saneringsdoel kan een locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling volgens de TRIADE zinvol zijn.

### – Instrumentarium SUS

De vaststelling van de saneringsurgentie wordt momenteel nog uitgevoerd met behulp van de SaneringsUrgentie Systematiek (SUS). Dit zal plaatsmaken voor het nieuwe Saneringscriterium (VROM, 2003). Indien gewenst kan de TRIADE onderdeel uit gaan maken van het Saneringscriterium.



Figuur 2.1 Vier mogelijke situaties voor ecologische risicobeoordelingen.

## 2.3 Situaties voor toepassing van de TRIADE

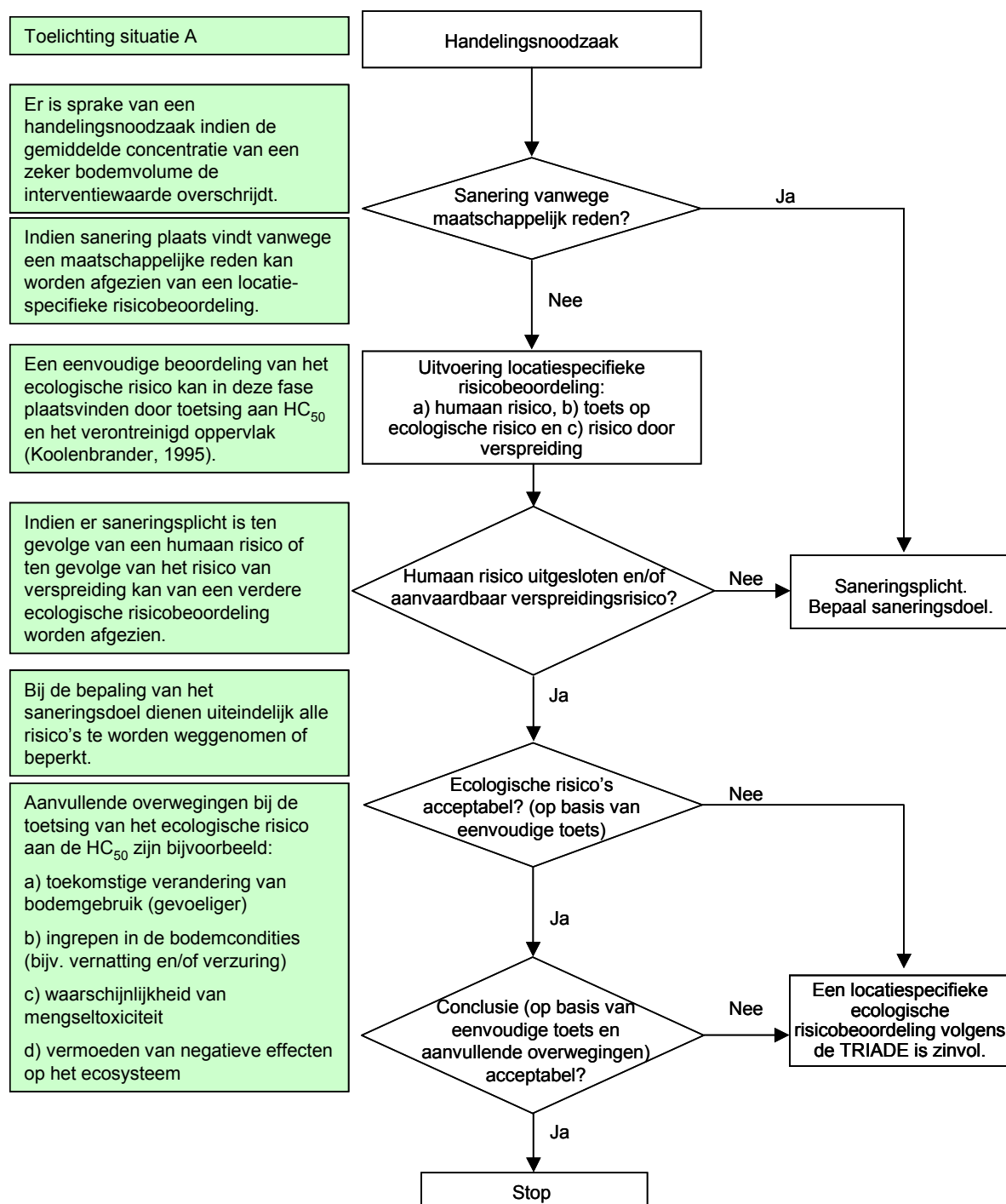
Afhankelijk van de conclusies NO zijn er dus vier mogelijke situaties van waaruit de ecologische risicobeoordeling kan worden uitgevoerd (zie figuur 2.1). Echter, eerst wordt beoordeeld of de richtlijn van toepassing is en de bodemkundige gegevens actueel en juist zijn.

### **2.3.1 Geval van een handelingsnoodzaak**

De uitkomst van het Nader Onderzoek deel 1 wijst uit dat er een handelingsnoodzaak bestaat (situatie A figuur 2.1 en figuur 2.2). Uit de Beleidsbrief Bodem, die in december 2003 aan de Tweede Kamer is aangeboden (VROM, 2003), kan worden afgeleid dat er dan een situatie is die tenminste *meer kans op risico* met zich meebrengt. Met behulp van het Saneringscriterium<sup>3</sup> dienen vervolgens locatie- en gebiedsspecifiek de risico's bij een bepaald gebruik voor mens, ecologie en verspreiding te worden vastgesteld.

---

<sup>3</sup> Het Saneringscriterium is een systematiek waarmee locatie- en gebiedsspecifiek de risico's bij een bepaald gebruik van de bodem worden vastgesteld. Het gaat daarbij om risico's voor de mens, ecologie en verspreiding.



Figuur 2.2 Stroomschema om de wenselijkheid van een TRIADE te beoordelen uitgaande van situatie A.

### **2.3.2 Geval van bodemverontreiniging, maar geen handelingsnoodzaak**

De conclusie van het Nader Onderzoek is dat er geen handelingsnoodzaak is maar wel sprake is van bodemverontreiniging (situatie B, figuur 2.1 en figuur 2.3). Dit betekent dat de gemiddelde concentraties van de aangetroffen stoffen, op onderzoeksschaal, zich beneden de interventiewaarden bevinden. Eén of meer individuele waarnemingen kunnen zich echter wel boven de interventiewaarden bevinden.

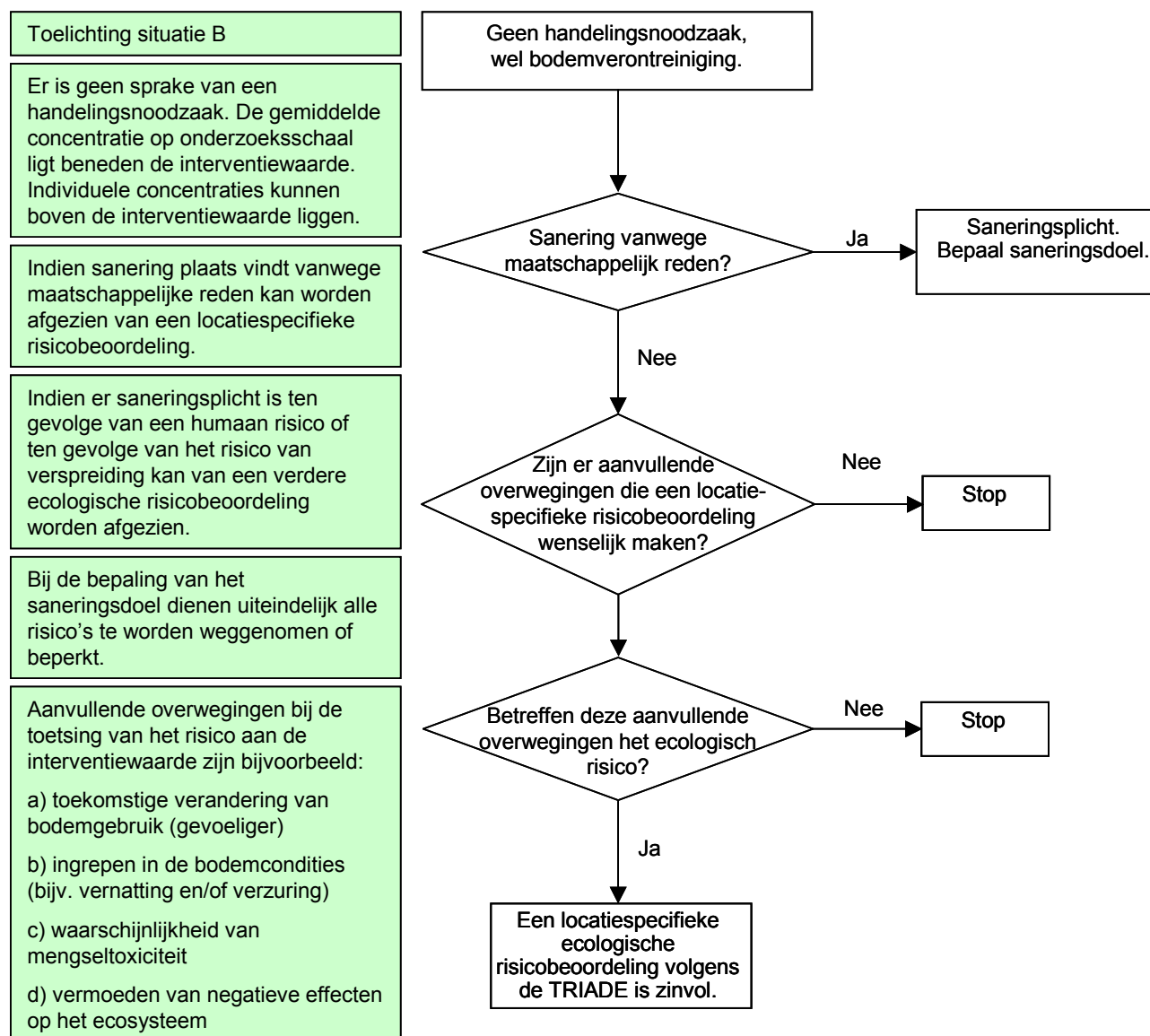
De conclusie, 'geen handelingsnoodzaak' en daarmee een niet ernstig geval van bodemverontreiniging, betekent dat de ecologische risico's aanvaardbaar worden geschat. Deze conclusie is meestal acceptabel in geval van biologisch (ecologisch) minder waardevolle of kwetsbare gebieden. Voorbeelden zijn: het stedelijk gebied, woongebieden en industrieterreinen. Voor deze locaties kan een beperkte beheersplicht worden opgelegd. Er kunnen echter lokale omstandigheden zijn waardoor een locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling wenselijk is. Lokale omstandigheden die een nadere afweging rechtvaardigen zijn bijvoorbeeld:

- a) de effectiviteit van beperkt beheer is onduidelijk;
  - b) verandering van bestemming, bijvoorbeeld van landbouw naar natuur;
  - c) ingrepen in de bodemgesteldheid, bijvoorbeeld vernatting of verzuring;
  - d) de aanwezigheid van een cocktail van verontreinigingen die een gezamenlijk negatief effect kunnen hebben op het ecosysteem;
  - e) de aard van de verontreiniging in combinatie met de locatiespecifieke bodemkenmerken;
  - f) het voorkomen van bijzondere en/of gevoelige ecosystemen of organismen.
- Zeldzaamheid, biologische kwaliteit, kwetsbaarheid en vervangbaarheid verdienen hierbij de aandacht.

De toepassing van de TRIADE in geval van een niet-ernstige bodemverontreiniging vereist een enigszins toegesneden aanpak. Voor dit soort verontreinigingsituaties kan de TRIADE worden ingezet als beoordelingsinstrument bij het verantwoord omgaan met de bodem.

Met het onderstaande beslisschema kan de wenselijkheid van een TRIADE in geval van een bodemverontreiniging zonder handelingsnoodzaak worden beoordeeld.





Figuur 2.3 Stroomschema om de wenselijkheid van een TRIADE te beoordelen uitgaande van situatie B

### 2.3.3 Geval van een verontreiniging met een niet-genormeerde stof

Bij een bodemverontreiniging met een niet-genormeerde stof (situatie C in figuur 2.1 en figuur 2.4) is toetsing aan een bodemkwaliteitsnorm (bijvoorbeeld de interventiewaarde) niet mogelijk. In dat geval dient eerst te worden gekeken of er een handelingsnoodzaak bestaat door de aanwezigheid van andere verontreinigingen die wel genormeerd zijn. In dat geval kan situatie A worden gevolgd en bij de sanering kunnen ook de niet-genormeerde verontreinigingen worden aangepakt.

Zijn er geen andere verontreinigingen aanwezig dan is sanering wellicht aan de orde vanwege maatschappelijke overwegingen. Bij het vaststellen van het saneringsdoel zal men, in geval van een restverontreiniging overigens wel eventuele risico's moeten onderzoeken. Het ecologische risico kan dan bij voorkeur worden beoordeeld met de TRIADE. De TRIADE biedt door de inzet van diverse technieken immers juist soelaas bij stoffen die niet genormeerd zijn.

Bij de afwezigheid van maatschappelijke redenen om tot sanering of kwaliteitsverbetering over te gaan kan eventueel een eerste toetsing plaatsvinden aan een andere kwaliteitsnorm dan de interventiewaarde. Ook kan worden nagegaan of een ecologisch risico kan worden uitgesloten op grond van het bodemgebruik, contactmogelijkheden, stofeigenschappen van de verontreiniging, etc. Een eventuele uitsluiting van ecologische risico's dient dan wel gemotiveerd te worden.

Een andere mogelijkheid is de afleiding van ad-hocinterventiewaarden. Via de milieu-inspectie kan een verzoek hiertoe worden gedaan aan het RIVM. Indien op grond van ad-hocinterventiewaarden een ecologisch risico niet kan worden uitgesloten, dient tot sanering overgegaan te worden of tot een locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling volgens de TRIADE. De VROM-circulaire streef- en interventiewaarden bodemsanering geeft een algemene handreiking over hoe om te gaan met niet-genormeerde verontreinigingen (VROM, 2000).

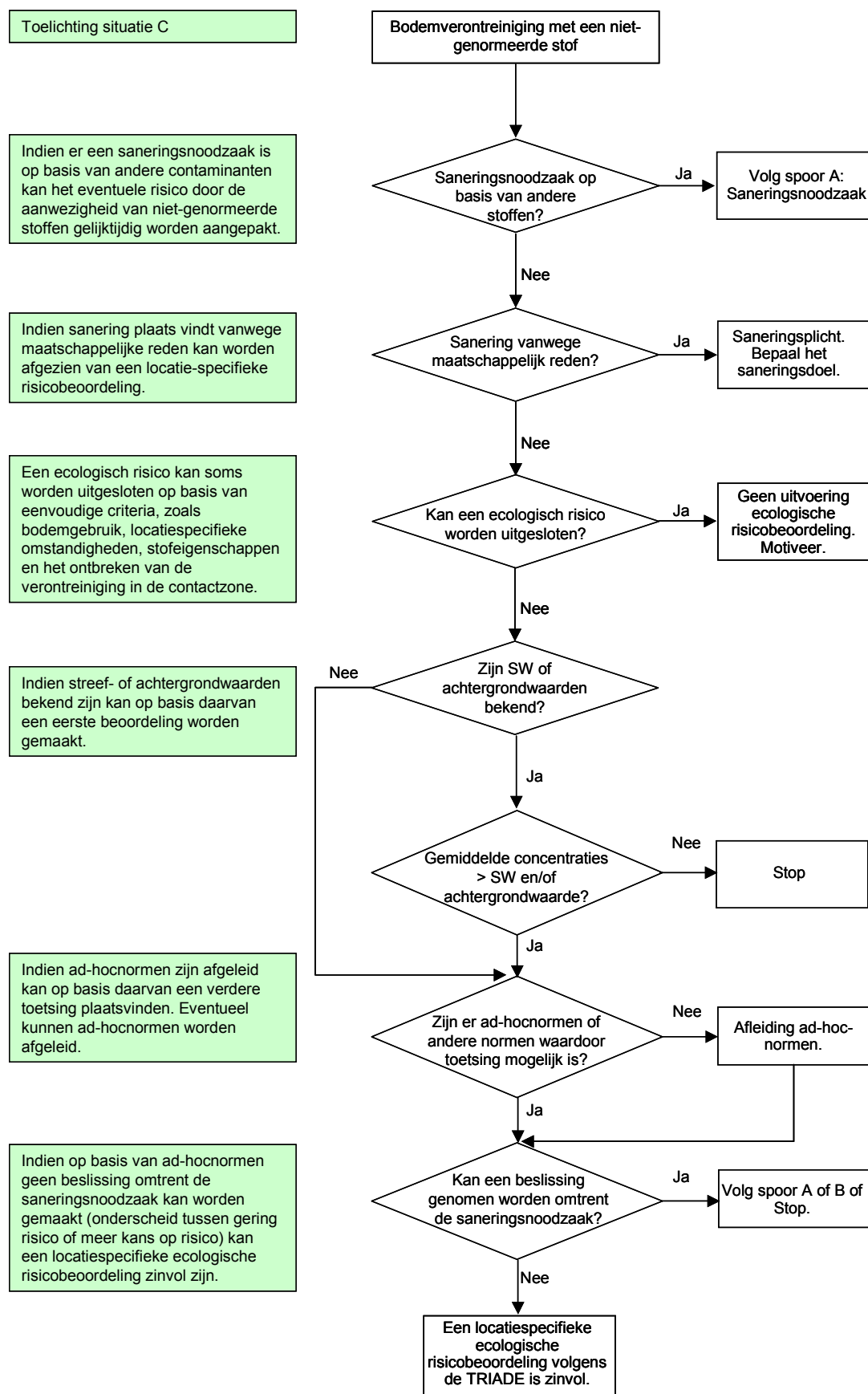
#### **2.3.4 Geval van waarneembare ecologische schade**

Er kan een situatie zijn waarbij men ecologische effecten waarneemt, maar een directe relatie met de lokale bodemkwaliteit (nog) niet aantoonbaar is (situatie D in figuur 2.1). Ecologische schade kan immers veroorzaakt worden door andere stressoren zoals verstoring, de kwaliteit van de waterhuishouding (geohydrologie), bodemtextuur of bijvoorbeeld de bodemvruchtbaarheid. In het geval dat de bodemverontreiniging de oorzaak is kan het gaan om de aanwezigheid van onbekende stoffen (zie ook figuur 2.4 verontreiniging met een niet-genormeerde stof) of een bron van buiten de locatie. Een voorbeeld hiervan is het effect van stortplaatsen op naburige ecosystemen.

Algemene aanwijzingen of een TRIADE in dergelijke gevallen uitgevoerd kan worden zijn niet te geven. Hiervoor is het oordeel van een expert noodzakelijk. Een eventuele TRIADE kan dan zo worden ingericht dat een mogelijke oorzaak (bijvoorbeeld de bodemkwaliteit) van de ecologische schade kan worden aangetoond of juist kan worden uitgesloten.

## **2.4 Resumé**

Indien de conclusie is dat uitvoering van de TRIADE wenselijk is, dan vervolgt men met de eenvoudige systematiek voor de TRIADE (hoofdstuk 5; Laag 1) of met de Basisbenadering (hoofdstuk 4) en een meer complexe TRIADE (hoofdstuk 5; Laag 2 en verder). Het besluit tot niet uitvoeren van de TRIADE kan men motiveren aan de hand van de beslispunten uit het gebruikte stroomschema.



Figuur 2.4 Stroomschema om de wenselijkheid van een TRIADE te beoordelen uitgaande van situatie C.



## 3 Laagsgewijze aanpak en risicohypothese

### 3.1 Onderzoeksfasen en diepgang

Risicobeoordelingen variëren van zeer eenvoudig tot ingewikkeld en veeleisend. Wat bepaalt hoeveel inspanning er nodig is? Hoe vaak en hoe grondig moeten de onderzoeksgegevens bestudeerd worden? Wanneer kan besloten worden of de risicobeoordeling klaar is?

Veel van deze vragen kunnen beantwoord worden door de risicobeoordeling ‘gelaagd’, van eenvoudig tot diepgaand, aan te pakken. De lagen kunnen beschouwd worden als op zichzelf staande en opeenvolgende risicobeoordelingen met een progressieve gegevens-, inzicht- en onderzoeksintensiteit, waarbij de beoordeling steeds locatiespecifieker wordt. Een beoordelingslaag heeft een beginpunt en een uitkomst waarop een managementbeslissing kan worden genomen. De beslissing na een ‘laag’ kan ook zijn dat er meer onderzoek moet gebeuren, dat wil zeggen dat er een volgende ‘laag’ nodig is, omdat de onzekerheden nog te groot zijn. De gelaagde aanpak maakt het mogelijk om efficiënt met beperkt onderzoeksgeld om te gaan.

Het kan voorkomen dat gedurende het onderzoek binnen een laag van de risicobeoordeling informatie beschikbaar komt die aanleiding geeft tot aanpassing van de uitgangspunten, bijvoorbeeld aanpassing van de beoordelingscriteria, of aanpassing in het bodemgebruik. Voor het inpassen van deze informatie is het niet altijd nodig om een nieuwe laag toe te passen, maar kan volstaan worden met een zogenaamde ‘iteratie’ (US-EPA, 1998). Een iteratie is een normaal, maar niet formeel gepland, onderdeel van een locatiespecifieke risicobeoordeling. Een iteratie kan inhouden het overdoen van de (laag van de) risicobeoordeling met nieuwe onderzoeksgegevens of met nieuwe aannames in het conceptuele risicomodel. Zorgvuldige planning en een goed doordacht risicomodel kunnen het aantal iteraties beperken.

De complete risicobeoordeling is voltooid, als er voldoende vertrouwen is in de uitkomst (de onzekerheidsreductie is bereikt) en er een acceptabele en onderbouwde beslissing genomen kan worden.

### 3.2 Conceptueel model en risicohypothesen

Een conceptueel model is een beschrijving (eventueel ondersteund met figuren) van de voorspelde verbanden tussen ecologische aspecten en de verontreiniging waaraan ze zijn blootgesteld. Deze verbanden kunnen effecten op ecologische processen en organismen, directe blootstelling van organismen, doorvergiftigingsroutes en bioaccumulatie omvatten.

De voordelen van conceptuele modellen zijn:

- het maakt ecosystemen concreet, zodat er aanknopingspunten voor onderzoek gedefinieerd kunnen worden;
- het helpt om de resultaten te kunnen communiceren;
- het maakt zichtbaar wat er bekend is en wat niet;
- het vormt het raamwerk voor het opstellen van risicohypothesen.

De complexiteit van het conceptuele model is afhankelijk van de aanleiding voor de risicobeoordeling, de mate van verontreiniging, het bodemgebruik, de aard van de effecten, het aantal en het soort van de risicohypothesen (zie hierna) en karakteristieken van het systeem. Voor eenvoudige of kleine verontreinigingsgevallen is doorgaans het conceptuele model simpel. Bijvoorbeeld bij de toepassing van het normenstelsel en SUS bestaat het bijbehorende conceptuele model uit de beschrijving van een ecosysteem met generieke soorten die directe blootstelling aan de totaalconcentraties in de bodem ondervinden. De praktische invulling daarvan is een set met literatuurgegevens van organismen die getest worden in het laboratorium aan enkelvoudige stoffen.

Een conceptueel model bevat in ieder geval een set met mogelijke relaties tussen ecologische entiteiten en de verontreiniging, blootstellingsroutes en eventueel beoordelingseindpunten. Het conceptuele model is de basis voor de selectie van het beoordelingsinstrumentarium. Bij ingewikkelde modellen kan een figuur deze relaties inzichtelijk maken.

Bij eenvoudige beoordelingen (eerste 'laag') zijn de conceptuele modellen algemeen en globaal, en worden enkele globale relaties tussen de verontreiniging en effecten beschouwd. Naarmate er meer detailinformatie beschikbaar is, zullen de conceptuele modellen preciezer worden, zodat de onderzoekers een groot aantal relaties tussen verontreiniging en effecten kunnen evalueren voor geschiktheid als onderzoeksparameters. Het is vooral in deze fase dat de keuzes helder moeten zijn en gedocumenteerd moeten worden.

Risicohypothesen of toetscriteria zijn specifieke aannames over het effect van een verontreiniging op de geselecteerde eindpunten, en zijn gebaseerd op theorie, logica, literatuurgegevens over toxiciteit van de verontreiniging, mathematische en probabilistische modellen, gegevens over waargenomen effecten op de locatie, of op 'best professional judgement' van de onderzoekers die bij de beoordeling betrokken zijn. Risicohypothesen kunnen relatief simpel zijn, bijvoorbeeld bij de toepassing van HC<sub>50</sub>-waarden (het risico is ernstig als 50% van de getoetste soorten boven de No Observed Effect Concentration (NOEC) wordt blootgesteld), of juist ingewikkeld zijn bij complexe beoordelingen. Risicohypothesen geven een kwantitatieve betekenis aan de relaties binnen een conceptueel model. Ze kunnen gebruikt worden voor de planning van het onderzoek en maken de beoordeling transparant en toetsbaar.

## 4 Basisbenadering

Indien men tot de uitvoering van een TRIADE heeft besloten dient vervolgens te worden bepaald op welke facetten van het ecosysteem een locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling zich moet richten. Bij een eenvoudige beoordeling kan men zich beperken tot de facetten die ook als uitgangspunt worden genomen bij een beoordeling met SUS of bij toepassing van de HC<sub>5</sub>- en HC<sub>50</sub>-waarden. Dit betreft dan een generieke benadering met alle soorten en processen en de blootstelling vindt plaats op basis van totaalgehalten van de verontreinigende stoffen. Het conceptuele model hoeft dan niet meer gedefinieerd te worden, en de beoordelingscriteria zijn relatief simpel. Het voorstel bij de richtlijn in dit rapport is om zoveel mogelijk aan te sluiten bij de uitgangspunten van SUS. In paragraaf 5.3.1 is dit nader uitgewerkt.

In een aantal gevallen zal dit niet het gewenste resultaat opleveren. Dan dient er voor een meer op de locatie afgestemde benadering te worden gekozen. De vraagstelling moet worden verbijzonderd en de verantwoordelijkheden en de keuzepunten moeten aangegeven worden. De in 1998 opgestelde 'Basisbenadering' is daarvoor de aangewezen route waarbij het relevante bodemgebruik (huidig of toekomstig) het vertrekpunt is (Rutgers et al., 1998a). Figuur 4.1 geeft schematisch een overzicht van de Basisbenadering. De route voert langs de benoeming van ecologische aspecten die noodzakelijk zijn om het bodemgebruik tot zijn recht te laten komen en de mogelijke ecologische risico's. Ten slotte wordt het 'conceptuele model' beschreven dat het uitgangspunt is voor een onderzoek op grond van de TRIADE. Het is wenselijk dat bij de uitvoering van de Basisbenadering alle partijen worden betrokken. Deze zijn in ieder geval de probleembezitter, grondbezitter of beheerder, het bevoegde gezag en de deskundige die de uiteindelijke TRIADE uitvoert. Andere mogelijke partijen zijn: gemeente (bijvoorbeeld vanuit de afdelingen ruimtelijke ordening en milieu) en lokale belangengroepen. Pas als er gezamenlijk overeenstemming is over de concrete vraagstelling, de uitgangspunten, de toetscriteria en de te bereiken doelstelling kan een TRIADE succesvol worden ingezet.

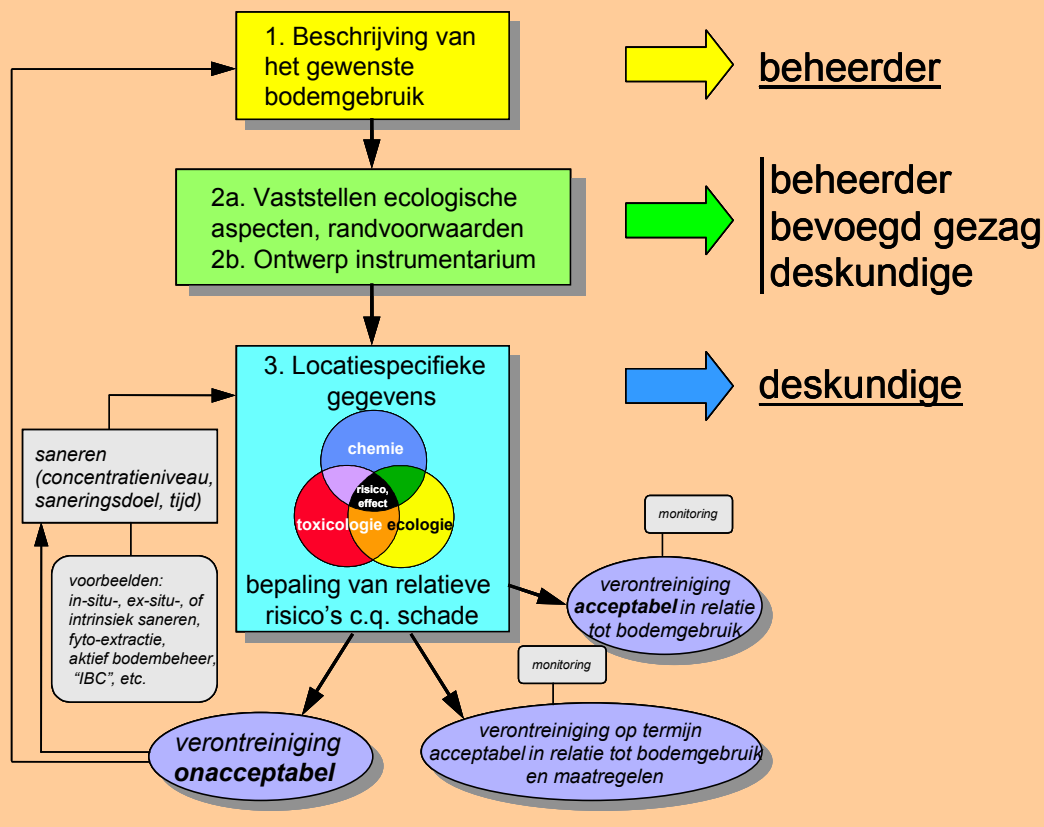
## De Basisbenadering

Voor locatiespecifieke ecologische risicobeoordelingen is enige jaren geleden een zogenaamde 'Basisbenadering' ontwikkeld (Rutgers et al., 1998a). Met de Basisbenadering worden de belangrijkste stappen bij een locatiespecifieke beoordeling van de risico's van bodemverontreiniging onderscheiden. Bij elke stap worden ook de verantwoordelijkheden en betrokken instanties benoemd:

Stap 1: Beschrijving van het huidige of gewenste bodemgebruik. Dit is het domein van de bodembeheerder binnen de randvoorwaarden van bestemmingsplannen en ruimtelijke ordening. Dit kan meer of minder specifiek worden uitgevoerd. Het startpunt is een onderverdeling in een zestal categorieën: Natuur; Landbouw; Recreatie en groenvoorziening; Wonen met moestuin en volkstuinten; Wonen zonder tuin, infrastructuur, verkeer en industrieterreinen.

Stap 2: Dit is de belangrijkste stap van de beoordeling. Hierin wordt de koppeling gemaakt tussen het bodemgebruik, de ecologische randvoorwaarden en het onderzoek. Het opstellen van een conceptueel model, inclusief criteria voor de beoordeling is de belangrijkste uitkomst van deze stap. Het bevoegd gezag en de bodembeheerder geven met hun goedkeuring aan dat het onderzoek volgens de geschetste lijn uitgevoerd moet worden. De uitkomsten van het onderzoek in stap 3 zijn bindend, en monden uit in een bodembeheersbeslissing of een nieuwe beoordelingsronde.

Stap 3: In deze stap vindt de feitelijke beoordeling plaats met behulp van het in stap 2 vastgelegde onderzoeksplan. De TRIADE staat hierin centraal.



Figuur 4.1 Schematisch overzicht van de Basisbenadering



## 4.1 Bodemgebruik: eerste stap van de Basisbenadering

De eerste stap betreft de beschrijving van het relevante bodemgebruik. Bij de planvorming (ruimtelijke ordening) dient, indien mogelijk, de lokale bodemkwaliteit een rol te spelen. Hiermee kan in een vroegtijdig stadium worden voorkomen dat gevoelige functies op een kwalitatief mindere bodem worden gepositioneerd, terwijl een optimale bodem elders onvoldoende benut wordt voor deze gevoelige functies.

Bij de definitie van het bodemgebruik gaat men zoveel mogelijk uit van het gebruik zoals door de ‘samenleving’ wordt herkend. Geadviseerd wordt hierbij aan te sluiten bij de indeling zoals gehanteerd door de Vereniging Nederlandse Gemeenten (VNG, 1992), zie tabel 4.1. In dit stadium verdient ook de concretisering van de vraag nadere aandacht. Voert men een TRIADE uit voor de beslissing wel/geen sanering, herinrichting, ontwikkeling van actief bodembeheer of zijn alle opties nog open? Een concrete en heldere vraagstelling maakt het ontwerp van de TRIADE gemakkelijker.

## 4.2 Tweede stap: ecologische aspecten, conceptueel model en risicohypothesen

De tweede stap is het toekennen van ecologische aspecten aan het bodemgebruik, het opstellen van het conceptuele model en de risicohypothesen. Elk type bodemgebruik stelt andere eisen aan de bodemfuncties en het ecologisch functioneren, zoals:

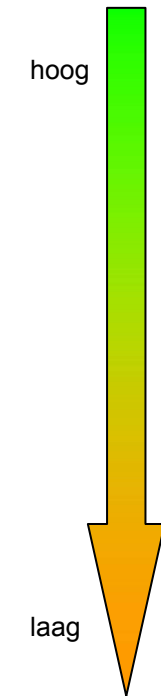
- het opleveren van schoon grondwater;
- het opleveren van voedingsstoffen voor planten en dieren;
- zelfreinigend vermogen (afvalverwerking in de bodem);
- waterregulering ter voorkoming van uitdrogen of overstromen;
- klimaatregulering.

Natuurontwikkeling stelt meestal hoge eisen aan de kwaliteit van de bodem. Bij infrastructuur en industrieterreinen kan men bijvoorbeeld een duurzame groenvoorziening als een te beschermen functie beschouwen.

In tabel 4.1 worden ecologische aspecten genoemd die belangrijk zijn voor de diverse vormen van bodemgebruik. De opsomming is niet uitputtend, want ook hier is een locatiespecifieke benadering bepalend voor de uiteindelijke keuzen.

Aan de hand van het conceptuele model wordt het beoordelingsinstrumentarium samengesteld uit de TRIADE-gereedschapskist, inclusief de wijze waarop de resultaten kwantitatief gebruikt moeten worden bij de uiteindelijke beoordeling.

Tabel 4.1 Voorbeelden van bodemgebruik en daaraan gekoppelde ecologische aspecten

Niveau ecologische doelstelling	Stap 1	Stap 2
	Bodemgebruik	Ecologische aspecten
 hoog       laag	Natuur	Doeltype (sleutelsoorten, doelsoorten, predatoren etc.) Interspecies relaties Systeemprocessen Nutriëntencycli Zelfreinigend vermogen
	Landbouw	Gevoelige productiegewassen en vee Zelfreinigend vermogen Mycorrhiza Strooiselafbraak Grondwater kwaliteit Nutriëntencycli Zelfreinigend vermogen
	Recreatie en groenvoorziening	Plantensoorten Nutriëntencycli Zelfreinigend vermogen Specifieke fauna Grondwater kwaliteit
	Wonen met moestuin en volkstuinten	Gevoelige productiegewassen Nutriëntencycli Zelfreinigend vermogen Huisdieren
	Wonen met tuin	Plantengroei (siergewassen) Nutriëntencycli Zelfreinigend vermogen Huisdieren
	Wonen zonder tuin	Groenbeplanting en bermvegetatie Nutriëntencycli Zelfreinigend vermogen Grondwater kwaliteit
	Infrastructuur en verkeer Industrieterreinen	Groenbeplanting en bermvegetatie Nutriëntencycli Zelfreinigend vermogen Grondwater kwaliteit

Voor de eerste beoordelingslaag voorziet deze richtlijn in een voorstel voor de selectie van een eenvoudig conceptueel model en de bijbehorende risicohypothesen. Met andere woorden de eerste twee stappen van de Basisbenadering zijn gemaakt, maar moeten uiteraard bekrachtigd worden door het bevoegde gezag, de terreineigenaar of bodembeheerder, en de deskundigen. Het uitgangspunt was om aan te sluiten bij het conceptuele model van SUS en de HC<sub>5</sub>- en HC<sub>50</sub>-waarden. In tabel 4.2 worden deze uitgangspunten op een rij gezet, en voor de drie TRIADE-sporen (chemie, toxicologie en ecologie) ingevuld.

*Tabel 4.2 Mogelijke selectie van het instrumentarium voor de eerste beoordelingslaag volgend op de eerste twee stappen van de Basisbenadering (Rutgers et al., 1998a). De opdeling in drie gevoeligheden, met een onderscheid in verontreinigd oppervlak is conform de werkwijze van SUS (Koolenbrander, 1995).*

<b>Bodemgebruik</b>	<b>Gevoelig:</b>	<b>Matig gevoelig:</b>	<b>Ongevoelig:</b>
	Natuur	Recreatief groen, groenstroken, buffergebieden in de EHS, landbouw, tuinen, volkstuinen	Stedelijk gebied, industrie, infrastructuur
<b>Conceptueel model</b>	Generieke benadering via alle soorten en ecologische processen.	Idem	Idem
<b>Risicohypothesen *</b>	Het ecosysteem is gevoelig voor geringe effecten over een klein oppervlak	Het ecosysteem is gevoelig voor matige effecten over een klein oppervlak, of geringe effecten over een groter oppervlak	Het ecosysteem is gevoelig voor matige effecten over een groter oppervlak, en geringe effecten over een groot oppervlak
<b>Eindpunten chemie</b>	Generieke mengsel Toxische Druk gebaseerd op NOEC-, Effect Concentration 50% (EC <sub>50</sub> ) en/of Lethal Concentration 50% (LC <sub>50</sub> ) waarden		
<b>Eindpunten toxicologie</b>	Breedwerkende bioassays, specifieke bioassays of biomarkers (Specifieke bioassays of biomarkers kunnen worden toegepast als de oorzaak-gevolg-relatie van belang is.)		
<b>Eindpunten ecologie</b>	Expert judgement, vegetatieopname, eenvoudige waarnemingen aan het bodemecosysteem		

\* Bij de eerste laag is er weinig onderscheid in de gevoeligheid van het instrumentarium. Door de criteria voor het risico af te laten hangen van de mate van effecten en de grote van het oppervlak (de risicocontour) kan onderscheid worden aangebracht tussen de drie gevoeligheden (gevoelig, matig gevoelig, ongevoelig).

Bij de volgende onderzoekslagen in de risicobeoordeling kunnen het conceptuele model en de bijbehorende risicohypothesen per locatie steeds specifiekere worden ingevuld, en kan beter met het specifieke bodemgebruik rekening worden gehouden. In tabel 4.3 wordt hiervoor een voorzet gedaan, inclusief potentiële instrumenten, maar exclusief suggesties voor de risicohypothesen. Het is nog niet mogelijk om deze richtlijn te voorzien van algemeen toepasbare risicohypothesen voor alle bodemtypen, typen bodemgebruik en ecosystemen. Binnen het landelijke platform ecologische risicobeoordeling (Van der Waarde et al., 2003) is onlangs voor natuurontwikkeling op bodem in uiterwaarden een instrumentarium ontwikkeld voor de risicobeoordeling, gebaseerd op de TRIADE-benadering.

Tabel 4.3 Indicatieve uitwerking van koppelingen tussen bodemgebruik en beoordelingsinstrumentarium

<b>Stap 1</b> <b>Bodemgebruik</b>	<b>Stap 2</b> <b>Ecologische aspecten en conceptueel model</b>	<b>Stap 3</b> <b>Indicatoren en parameters</b>		
(indicatief)	(voorbeelden)	Eindpunten Chemie (voorbeelden)	Eindpunten Toxicologie (voorbeelden)	Eindpunten ecologie (voorbeelden)
Natuur	Doeltype: sleutelsoorten, doelsoorten, toppredatoren Specifieke relaties tussen soorten Systeemprocessen Life support functies bodem	Fyto Potentieel Aangetaste Fractie (PAF) Mengsel-PAF doelsoorten Bioaccumulatie en doorvergiftiging Populatie dynamische modellen	Fytotoxiciteit, kiemingstesten met o.a. doelsoorten Toxiciteitexperimenten chronisch en acuut met o.a. doelsoorten Meten aan microbiële processen Bioassays	Kaakdeformatie muggenlarven, structuur sediment- en macrofauna, vogeldichtheden, strooiselafbraak, samenstelling gemeenschap nematoden Maturity Index (MI), invertebraten, micro-organismen en, planten, nitrificatie, stabiliteit voedselwebben
Landbouw	Gevoelige productiegewassen en vee Zelfreinigend vermogen Mycorrhiza Strooiselafbraak Grondwater	Idem wonen met tuin Bioaccumulatiegegevens voedingsgewassen zijn tevens bruikbaar	Idem aan wonen met tuin Bioaccumulatie in wormen bepalen	Biodegradatie, microbiële diversiteit, functionele groepen mijten, nematoden, spinnen grondwaterorganismen, voedselwebben
Recreatie en groenvoorziening	Plantensoorten (gebiedsbepalend) Nutriëntencycli Specifieke fauna	Idem aan wonen met tuin	Idem aan wonen met tuin	Maturity Index nematoden, kiemingstesten, microbiële diversiteit, vegetatie
Wonen met moestuin en volkstuinten	Gevoelige productiegewassen Nutriëntencycli Zelfreinigend vermogen van bodem (complexe verbindingen) Huisdieren	Fyto-PAF Idem aan wonen met tuin	Idem aan wonen met tuin	Microbiële diversiteit, inventarisatie van soorten bodemorganismen (regenwormen en enchytraeën)
Wonen met tuin	Plantengroei (siergewassen) Recycling nutriënten Ontwikkeling bodemstructuur, zelfreinigend vermogen van bodem vogels, knaagdieren en huisdieren	Biologisch beschikbare fractie schalen op fytotoxiciteit of wormen toxiciteit Bioconcentratie berekening doorvergiftiging m.b.v. model (planten, regenwormen, vogels, zoogdieren)	Fytotoxiciteit, kiemingstesten Toxiciteitexperimenten chronisch en acuut Meten aan microbiële processen, eenvoudige bioassays	Microbiële diversiteit, inventarisatie van soorten bodemorganismen (regenwormen en enchytraeën)
Infrastructuur, stedelijk gebied en industrieterrein	Robuuste begroeiing Biologische afbraak voor zelfreinigend vermogen	Generieke mengsel-PAF benadering gebaseerd op NOEC/ EC <sub>50</sub> / LC <sub>50</sub> waarden	Screeningstesten met bodemextracten, Life support functies Toxkits, Microtox	Micro-organismen, biodegradatie, microbiële diversiteit, biomassa micro-organismen, Biolog toets

### **4.3 Derde stap; het TRIADE-onderzoek**

Met de uitkomsten van de tweede stap van de Basisbenadering kan de deskundige aan het werk. Onder zijn of haar verantwoordelijkheid worden de diverse instrumenten ingezet, volgens vigerende protocollen en op een toetsbare en transparante wijze. Waar mogelijk worden standaardprotocollen toegepast, en worden voorschriften voor bemonsteringsstrategieën gevolgd. De deskundige rapporteert de uitkomsten van het onderzoek naar de opdrachtgever (beheerder/eigenaar) op een gestandaardiseerde wijze.



## 5 Praktische uitvoering van de TRIADE

### 5.1 Inleiding

In dit hoofdstuk wordt een handreiking gedaan voor het samenstellen van een instrumentarium voor een locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling gebaseerd op toepassing van de TRIADE-benadering. In alle gevallen is het relevante bodemgebruik (huidig of toekomstig) het uitgangspunt voor de risicobeoordeling.

Vervolgens worden stappen doorlopen om tot de selectie van beoordelingsinstrumenten te komen, uit de ‘gereedschapskist’ van de TRIADE. De verkregen selectie heeft een indicatieve waarde, het is geen verplicht stramen. Dit heeft twee redenen. Ten eerste is de lijst met instrumenten in dit rapport niet volledig. Het rapport zou te omvangrijk worden en in de wetenschappelijke literatuur zijn talrijke onderzoeksmethoden beschreven waar nog ervaring mee kan (moet) worden opgedaan. In de bijlagen is wel een lijst opgenomen met de op dit moment gangbare instrumenten, inclusief verwijzingen naar beschrijvingen van de methoden. Ten tweede kunnen specifieke omstandigheden van een bepaalde locatie de keuze voor de selectie of toepassing van de instrumenten beïnvloeden, waarin dit protocol niet voorziet. Elke locatie stelt namelijk specifieke eisen aan de concrete uitwerking van een adequaat beoordelingsinstrumentarium. De doelstelling is om op termijn een protocol te maken waarmee de meerderheid van de verontreinigde locaties (klein tot middelgroot) in Nederland beoordeeld kan worden. Uiteraard kan dit protocol altijd worden gebruikt als uitgangspunt voor het samenstellen of de ontwikkeling van een specifiek instrumentarium. In de onderstaande paragrafen wordt eerst een korte toelichting gegeven op het principe van het TRIADE-onderzoek. Deze wordt vervolgens nader uitgewerkt en praktisch ingevuld. In de bijlagen van dit rapport worden de afzonderlijke meet- en rekenmethoden in detail beschreven.

### 5.2 Achtergronden van een TRIADE-onderzoek

#### 5.2.1 *Het voortraject*

In hoofdstuk 2 zijn de beslissingsprocedures uitgewerkt die kunnen leiden tot de keuze van een locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling volgens de TRIADE-methodiek. Als dit het geval is kan het best worden vervolgd met een werkwijze volgens de Basisbenadering. Dit is nader toegelicht in hoofdstuk 4. De Basisbenadering levert als het ware een ‘checklist’ die bij kan dragen aan consensus over planologische aspecten, het gewenste bodemgebruik en het conceptuele model. Voor eenvoudige beoordelingen (of een eerste beoordelingslaag) volstaat een eenvoudig conceptueel model. Voor meer complexe beoordelingen worden uiteraard meer locatiespecifieke factoren gebruikt. Op deze wijze kunnen afspraken worden gemaakt over de doelstellingen en de consequenties van het uitgevoerde TRIADE-onderzoek. Deze aspecten zijn sturend voor de invulling c.q. wijze van uitvoering van een TRIADE.

### 5.2.2 *Principe van de TRIADE*

Het uitgangspunt is dat een goede en kosteneffectieve ecologische risico-evaluatie van bodem- en sedimentverontreiniging uitsluitend kan worden uitgevoerd volgens een gelaagd (gefaseerd) systeem (CCME, 1997; Check, 1996; Gaudet, 1994). Kostenbesparing wordt bereikt door niet meer onderzoek te doen dan voor de besluitvorming nodig is.

Een dergelijk beoordelingssysteem bestaat veelal uit drie lagen (in het engels '*tiers*' genoemd). In de opeenvolgende fasen wordt het ecologische risico stapsgewijs in kwantitatieve, locatiespecifieke en meer realistische termen weergegeven. Dit wordt bereikt door (zodanig) gebruik te maken van steeds diepgaander en meer complexe onderzoeksmethoden. De beoogde kosteneffectiviteit wordt bereikt door na uitvoering van elke stap de meetresultaten te vergelijken met tevoren vastgelegde beoordelingscriteria voor absoluut aanvaardbaar en absoluut onaanvaardbare risico (onderdeel van de Basisbenadering). Vervolgens wordt slechts tot verdergaand onderzoek besloten indien de verkregen resultaten nog geen heldere beslissing kunnen motiveren, c.q. de onzekerheid nog te groot is.

Een sterkere bewijsvoering (in het engels *weight of evidence*; WOE) wordt verkregen door effecten langs verschillende wegen te bepalen. De term TRIADE duidt in dit geval op het uitvoeren en interpreteren van een geïntegreerd onderzoek dat opgebouwd is uit drie sporen binnen een WOE aanpak:

- Bodemchemisch onderzoek naar stofconcentraties, beschikbaarheid en accumulatie. Deze gegevens worden uitgedrukt in een (niet nader gedefinieerd) potentieel ecologische effect.
- Ecotoxicologisch onderzoek met behulp van bioassays in laboratorium en/of veld.
- Ecologische inventarisatie waaruit een in het veld waarneembare aantasting van ecosysteemstructuur of functie kan worden afgeleid.

Ter illustratie geeft tabel 5.1 een overzicht van globale conclusies die aan verschillende combinaties van scores kunnen worden verbonden.



Tabel 5.1 Scoringstabel en conclusies uit de TRIADE (naar Chapman, 1996).

<b>Chemie</b> normover- schrijding aangetoond	<b>Toxicologie</b> toxiciteit aangetoond	<b>Ecologie</b> veranderingen waargenomen	<b>Conclusies</b>
+	+	+	Sterk bewijs voor aantasting door toxische stoffen.
-	-	-	Sterk bewijs tegen aantasting.
+	-	-	Verontreiniging aanwezig, maar contaminanten lijken niet biologisch beschikbaar.
-	+	-	Onbekende toxicanten aanwezig met geringe biologische beschikbaarheid.
-	-	+	Waargenomen veranderingen worden niet veroorzaakt door toxicanten.
+	+	-	Toxische contaminanten zijn aanwezig en biologisch beschikbaar, maar resulteren niet in ecologische veranderingen. Meer onderzoek nodig.
-	+	+	Ecologische aantasting wordt mogelijk veroorzaakt door onbekende toxicanten.
+	-	+	Contaminanten zijn niet biologisch beschikbaar, daarom worden de aangetoonde effecten mogelijk veroorzaakt door andere versterking

Met de combinatie van chemische analyses, bioassays en veldstudies kunnen oorzaak-gevolgrelaties beter zichtbaar worden gemaakt. In de veldsituatie optredende effecten worden in eerste instantie bepaald door een vergelijking met een geschikte lokale referentie. Een nadere onderbouwing van de schadelijke invloed van stoffen wordt verkregen op basis van resultaten uit bioassays. In de TRIADE-systematiek ligt de nadruk op de diagnose met inbegrip van de samenhang tussen effecten. Wanneer tot ingrijpen wordt overgegaan om de risico's voor het ecosysteem te reduceren, is inzicht in de oorzaak van de waargenomen effecten onontbeerlijk (Den Besten et al., 1995).

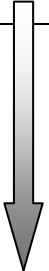
Beoordelingen op basis van de TRIADE waren van oorsprong kwalitatief van aard. Recent zijn methoden ontwikkeld om de TRIADE kwantitatief toe te passen, met behulp van TRIADE-matrices, en het schalen van de resultaten op een kwantitatieve effectschaal tussen 0 en 1 of 0-100% (Rutgers et al., 2001; Schouten et al., 2003a; Schouten et al., 2003b). Hierdoor wordt het mogelijk om per TRIADE-spoor gemiddelde risico's te berekenen en deze te voorzien van een spreidingsmaat.

De combinatie van drie TRIADE-sporen (chemie, toxicologie en ecologie) en meerdere onderzoekslagen leidt tot een mozaïek van verschillende meet- en rekenmethoden.

In tabel 5.2 worden voorbeelden van mogelijke meet- en rekenmethoden, gegroepeerd over de drie TRIADE-sporen en op volgorde van hun positie in de onderzoekslagen van de risicobeoordeling. De meetmethoden zijn grofweg ingevuld, dat wil zeggen dat alleen een categorie van metingen is aangegeven. Wanneer de eerste laag voldoende zekerheid geeft

over de aan- of afwezigheid van onacceptabele schadelijke effecten, dan kan het onderzoek worden beëindigd. Is de onzekerheid nog niet voldoende gereduceerd, of is meer locatiespecifiek detail gewenst, dan kan de al aanwezige informatie worden uitgebreid met een volgende laag in het onderzoek.

*Tabel 5.2 Voorbeelden van meet- en rekenmethoden voor een TRIADE-onderzoek. Er wordt onderscheid gemaakt in drie TRIADE-sporen en in het niveau van de onderzoekslaag waar de methode globaal thuis hoort (van eenvoudig naar complex).*

Spoor →			
Laag ↓	Chemie	Toxicologie	Ecologie
<b>Eenvoudig</b>	- beoordeling o.b.v. totaal concentraties	- generieke bioassays (acuut, elutriaten)	- expert judgement - snelle inventarisaties - simpele bodembioologische analyses
	- generieke PAF - poriewater analyses - sequentiële fracties - modellering biobeschikbaarheid  - bioaccumulatie - doelsoorten-PAF - populatie effectmodellen	- generieke bioassays - chronische bioassays  - multispecies bioassays - reproductie test(en) - microcosmos experimenten	- microbiologische processen - aanwezigheid planten- en diergroepen - diversiteit flora/fauna  - Pollution Induced Community Tolerance (PICT) - decompositie snelheid - voedselweb analyse
<b>Complex</b>			

Met de TRIADE-benadering kan maatwerk worden geleverd. Het systeem moet daarom flexibel van opzet zijn. Het kan worden aangepast als de locatiespecifieke omstandigheden of aspecten uit de Basisbenadering daar om vragen. De consequentie is tevens dat er niet een standaardrecept te geven is voor de uitvoering van een TRIADE-onderzoek. De TRIADE is een raamwerk dat voor iedere toepassing ingevuld wordt met de meest geschikte meet- en rekenmethoden uit een gereedschapskist.

Er circuleert een aantal opvattingen over de vraag wat een laag binnen een complete risicobeoordeling nu precies omvat. Volgens de auteurs van dit rapport is de definitie die de US-EPA (US-EPA, 1998) hanteert het meest geschikt. Een onderzoekslaag binnen een risicobeoordeling heeft een beginpunt, waar de onderzoeksstrategie wordt vastgesteld, en een eindpunt waarop een managementbeslissing kan worden genomen (stoppen of doorgaan met het onderzoek). Opvolgende onderzoekslagen kenmerken zich door het toevoegen van nieuwe informatie, maar de details liggen niet vast. Met andere woorden, het leveren van additionele inspanning over de drie TRIADE-sporen bij een nieuwe onderzoekslaag is niet dwingend vastgelegd. Wanneer nieuwe inzichten van invloed zijn op de resultaten van één TRIADE-spoor, en deze worden toegepast, kan er al sprake zijn van een nieuwe onderzoekslaag (dit is eventueel ook te regelen via een iteratie, zie hoofdstuk 3).

Bij de richtlijn in dit rapport is er een duidelijk onderscheid gemaakt in een mogelijke 1<sup>e</sup> laag en de inrichting van het TRIADE-onderzoek in daaropvolgende onderzoekslagen. De voorstellen voor de 1<sup>e</sup> onderzoekslaag hoeven overigens niet gevolgd te worden. Men kan direct starten met een meer complexe risicobeoordeling wanneer vooraf duidelijk is dat de voorgestelde 1<sup>e</sup> onderzoekslaag niet het gewenste resultaat zal opleveren.

Differentiatie naar verschillende vormen van bodemgebruik (zie ook hoofdstuk 4) voegt als het ware een derde dimensie toe aan tabel 5.2. Geprojecteerd in het platte vlak houdt dit in dat elke categorie van metingen (binnen de combinatie TRIADE-spoor en laag) in principe is opgesplitst in meerdere bodemgebruikvarianten. In aansluiting op hoofdstuk 4 zouden dit er zes zijn. Omwille van de overzichtelijkheid is deze onderverdeling niet in de tabel opgenomen. Het bodemgebruik en de daarbij behorende ecologische aspecten komen impliciet weer terug in de keuze van meet- en rekenmethoden in de verschillende lagen van het onderzoek.

De uitwerking van de verschillende vormen van bodemgebruik kan uiteindelijk heel gedetailleerd worden. Een vergaande uitwerking is niet erg relevant voor de eerste onderzoekslaag van de TRIADE, omdat bij een instrumentarium met generieke indicatorwaarde weinig onderscheidend vermogen aangebracht kan worden. In laag 1 worden er slechts drie gevoeligheden van het bodemecosysteem onderscheiden, afhankelijk van het bodemgebruik (5.3.1). Het onderscheid in vormen van bodemgebruik wordt belangrijker naarmate de beoordeling meer locatiespecifieke details bevat, dus bij opvolgende onderzoekslagen. De mogelijke invulling van de categorieën meet- en rekenmethoden wordt verderop in dit hoofdstuk toegelicht.

### **5.3 Uitwerking van de TRIADE**

Wanneer besloten is tot het uitvoeren van een TRIADE-onderzoek, en het voortraject is doorlopen, dan ligt de keuze van de uit te voeren metingen al voor een groot deel vast. In de fase van het Oriënterend en/of Nader Onderzoek en de eerste twee stappen van de Basisbenadering is waarschijnlijk al een aanzienlijke hoeveelheid informatie over de betreffende locatie verzameld. Hierbij kan gedacht worden aan een overzicht van de gebruikshistorie van het gebied, kaartmateriaal met inventarisatie van de omvang en verspreiding van de verontreiniging, biologische inventarisaties, de gewenste situatie, etc. Deze gegevens zijn mede van belang voor het aanvullende chemische onderzoek, de keuze van toxiciteitstesten, het biologisch veldonderzoek en de keuze van een lokale referentie.

#### **5.3.1 Laag 1**

Als het voorwerk is gedaan, inclusief de praktische voorbereidingen, dan start het TRIADE-onderzoek met laag 1. Laag 1 is een relatief eenvoudige en algemene screening van effecten in de drie TRIADE-sporen. Laag 1 is eenvoudig, generiek, goedkoop, maar voegt toch veel meer locatiespecifieke details toe aan de risicobeoordeling dan SUS. De keuze in mogelijke meet- en rekenmethoden (gereedschappen) in laag 1 is beperkt en daardoor voorziet deze richtlijn al in een vergaande mate van standaardisatie en liggen de protocollen van de meet-

en rekenmethoden goeddeels vast. Tabel 5.3 geeft een voorbeeld van de mogelijke invulling van de eerste stap in een TRIADE-onderzoek.

*Tabel 5.3 Voorbeeld van laag 1 in een TRIADE-onderzoek.*

Laag 1	Chemie	Toxicologie	Ecologie
<b>voorstel</b>	Berekening van de Toxische Druk (antropogeen, complete mengsel) op basis van totaalconcentraties	Eenvoudige bioassay → Microtox-test	Eenvoudige ecologische observatie → expert judgement flora/fauna
<b>alternatief</b>	→ TD * op basis van EC <sub>50</sub> /LC <sub>50</sub> in plaats van NOEC-waarden	→ kiemingstest → overleving regenwormen	→ nematodenanalyse → C- en N-mineralisatie

\* Voor de berekening van de HC<sub>50</sub> worden meestal NOEC waarden gebruikt (Swartjes, 1999). Het valt te verwachten dat de totale Toxische Druk (TD antropogeen, mengsel) in veel gevallen een hoge waarde voor de PAF oplevert, met name bij complexe mengsels van metalen en een zeer schone referentielocatie. Het alternatief is om uit te gaan van EC<sub>50</sub> of LC<sub>50</sub> waarden (Rutgers et al., 2000). De bijbehorende gevoeligheid is gemiddeld ongeveer een factor 10 lager, dan de HC<sub>50</sub> op basis van NOEC waarden (Posthuma et al., 2002). Een berekening met EC<sub>50</sub>/LC<sub>50</sub> waarden heeft als bijkomend voordeel dat de aansluiting met de andere TRIADE sporen juister is, en dat de beschikbaarheid van betrouwbare toxiciteitgegevens groter is. Een ander aspect betreft beperkte biobeschikbaarheid van de stoffen. Het voorstel is om dit vooral op een hoger onderzoeksniveau in de risicobeoordeling te implementeren, in verband met de geringe beschikbaarheid van relevante toxiciteitgegevens en andere onzekerheden.

Vooralsnog is er voor gekozen om laag 1 niet te beperken tot één vaste set van drie instrumenten. Afhankelijk van het bodemgebruik, de grondsoort en de praktische mogelijkheden zijn enkele varianten mogelijk. Zoals in het voorgaande al werd aangehaald, kunnen binnen laag 1 eventueel meerdere metingen per TRIADE-spoor worden gedaan om het ecologisch effect vast te stellen (zie ook uitleg over iteraties in hoofdstuk 3). Vanuit het oogpunt van verdere standaardisering en vergelijkbaarheid van locaties kan in de toekomst besloten worden om de methodiek van laag 1 nader vast te leggen. De mogelijke meetmethoden zijn nader omschreven in de bijlagen.

#### Toelichting op de mogelijk gereedschappen in laag 1

In het TRIADE-spoor 'chemie' vormen de totaalgehalten van stoffen het uitgangspunt voor de berekening van de totale Toxische Druk (TD), waarbij rekening gehouden wordt met de natuurlijke achtergrond en met de gecombineerde werking van alle stoffen samen (Rutgers et al., 2000a; Rutgers et al., 2001). De werkwijze sluit aan op die in de bepaling van het actuele ecologische risico volgens de SaneringsUrgentie Systematiek (SUS) met behulp van de HC<sub>50</sub>-waarde. De Toxische Druk levert een aanzienlijke verbetering ten opzichte van de regels voor HC<sub>50</sub>-overschrijdingen in SUS. Dit punt in de TRIADE vormt tevens de verbinding met het standaard Oriënterend en Nader (bodem)Onderzoek. De gegevens over stofgehalten zullen in de meeste gevallen al aanwezig zijn en kunnen eenvoudig worden aangevuld met resultaten van ecotoxicologisch en ecologisch onderzoek.

Het TRIADE-spoor 'toxicologie' in laag 1 wordt bij voorkeur onderzocht met een breed werkende en breed inzetbare 'tox-kit' voor (acute) effecten. Meetmethoden op basis van een waterig extract van de bodem (elutriaat) onder gestandaardiseerde omstandigheden komen hiervoor in aanmerking. Het voordeel is dat specifieke bodemeigenschappen minder van invloed zijn op de resultaten. Dit is tegelijkertijd een nadeel omdat dit type metingen een geringere veldrelevantie heeft. Voor een aantal bodemgebruiktypen als moestuinen, akkerbouwgrond, natuurontwikkeling en dergelijke kan besloten worden om een meer toegespitste test in te zetten. Uiteraard bestaat er ook de mogelijkheid om meerdere testen uit te voeren (batterij), of dit in opvolgende lagen te doen.

Effecten die in het veld optreden (TRIADE-spoor ecologie) zijn het best waarneembaar bij de organismen die zich niet of nauwelijks (kunnen) verplaatsen, en in contact staan met een verontreiniging. Een snelle analyse is mogelijk voor de flora en verschillende groepen bodemorganismen. Ze staan tevens model voor een aantal basale ecologische functies. In het algemeen zal een vegetatiedeskundige snel een oordeel kunnen vormen over de mate van afwijking in bedekking en soortensamenstelling. Inventarisaties kunnen ook in meer kwantitatieve termen worden uitgedrukt. Het gebruik van de flora als indicator heeft als voordeel dat er relatief veel over bekend is, zowel qua historische gegevens, referentiebeelden, als indicatorwaarden.

In tabel 5.3 zijn drie voorbeelden van geschikte ecologische metingen in laag 1 gegeven. Nematoden zijn kleine wormachtige dieren. Ze komen in grote aantallen en diversiteit voor in vrijwel elke bodem. Aantallen, diversiteit, en afgeleide indexen zijn indicatief voor de kwaliteit en het functioneren van de bodem. In Nederland is dit één van de meest uitvoerig onderzochte groepen bodemorganismen. Mineralisatie van koolstof en stikstof zijn basale en zeer wezenlijke processen in de bodem. Bacteriën breken de organische stof af en maken de daarin opgeslagen voedingsstoffen opnieuw beschikbaar voor de plantengroei.

### **5.3.2 Laag 2 en verder**

Indien de uitslag van laag 1 nog niet leidt tot voldoende zekerheid voor een te nemen beslissing, kan het onderzoek worden uitgebreid met de inzet van 'zwaardere' meet- en rekenmethoden (zie voor uitwerking paragraaf 6.2). Ook hier bestaat weer de mogelijkheid om kleine stapjes te maken met een set van drie nieuwe indicatoren per keer, of meer waarnemingen te doen met een bepaalde categorie van gereedschappen. In deze en opvolgende lagen laag neemt het aantal keuzemogelijkheden sterk toe. Gedacht kan worden aan meer geavanceerde berekeningen van de Toxische Druk in de vorm van varianten van de Potentieel Aangetaste Fractie (PAF) voor specifieke groepen van organismen, rekening houden met de biobeschikbaarheid en doorvergiftiging, toxiciteitstesten die groei en reproductie in beschouwing nemen bij een langere blootstellingstijd onder veldrelevante condities, toetsen met meer soorten, veldwaarnemingen aan organismen die meer tijd en specialistische kennis vergen, en de toepassing van populatie- en voedselwebmodellen. Het potentieel aan gereedschappen is vrij groot. Overzichten zijn onder andere te vinden in publicaties van Løkke en Van Gestel (1998), Van der Waarde et al. (2003) en Warren-Hicks et al. (1991). In de wetenschappelijke literatuur worden vele mogelijkheden voor instrumenten geboden. In het kader van 'protocolisering' spelen echter ook praktische

aspecten een rol, zoals de standaardisatie van meetmethoden en de mogelijkheid om dit op routinematige basis bij contractlaboratoria uit te laten voeren.

In het algemeen is het onderzoek in laag 2 (en hoger) uitvoeriger, het vergt daarmee ook extra tijd en kosten. Het bodemgebruik gaat in laag 2 van de TRIADE een grotere rol spelen, en kan invloed hebben op de keuze van de meet- en rekenmethoden. Vanaf laag 2 is er een grotere vrijheid in de keuze van de methoden. De gegevens die in laag 1 zijn verzameld blijven deel uitmaken van de risicoschatting. Ze worden meegewogen in het gemiddelde effect per TRIADE-spoor. De werkwijze voor een effectschatting wordt toegelicht in paragraaf 5.4 en hoofdstuk 6.

In tabel 5.4 is een voorbeeld gegeven van een mogelijke 2<sup>e</sup> laag in de TRIADE. Hierin worden de in principe meer gevoeligere of relevantere instrumenten toegepast. In het voorbeeld wordt de ecologische risicoschatting op basis van chemische gegevens uitgebreid met de berekening van de gezamenlijke toxische druk van de aanwezige stofconcentraties en het mogelijke effect op planten. Voor deze laatste berekening van de PAF wordt een specifieke deelverzameling gebruikt van toxiciteitgegevens van planten. De regenwormenreproductietest en slatest geven een meer specifieke indicatie van de toxiciteit van bodemmateriaal van de locatie voor organismen die relevant zijn voor dit type bodemgebruik. In het onderdeel ecologie worden veldwaarnemingen gedaan die enerzijds aansluiten bij de toxiciteitstesten en anderzijds van belang zijn voor het bodemgebruik.

*Tabel 5.4 Voorbeeld van meet- en rekenmethoden voor laag 2 en verder in een TRIADE-onderzoek op een locatie in de categorie bodemgebruik 'wonen met moestuin en volkstuinten'.*

	<b>Chemie</b>	<b>Toxicologie</b>	<b>Ecologie</b>
<b>Laag 2</b>	→ berekening van de 'fyto-PAF'	→ regenwormenreproductietest → slatest: kieming en groei	→ regenwormen: aantal + biomassa → bacteriën: aantal + biomassa

In dit voorstel voor een TRIADE-richtlijn is een poging gedaan om de meest gangbare, beschikbare en uitvoerbare meetmethoden op een rij te zetten en kort te beschrijven. Het gebruik van andere instrumenten is beslist niet uitgesloten. Naarmate meer locatiespecifieke kenmerken gewenst zijn, komen minder algemene methoden misschien eerder voor toepassing in aanmerking. Het definitieve protocol voor de TRIADE bij locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling zal in de toekomst sterk gestandaardiseerde meet- en rekenmethoden bevatten (bijvoorbeeld NEN- en ISO voorschriften), een grote serie geaccepteerde en semi-gestandaardiseerde methoden, en een set met richtlijnen voor de toepassing van niet gestandaardiseerde testen.

In tabel 5.5 is een selectie van mogelijkheden gemaakt. De indeling van instrumenten naar TRIADE-onderdelen heeft hier een andere vorm, omdat tevens een globale indicatie is gegeven voor de geschiktheid van de methode bij verschillende vormen van bodemgebruik.

Tabel 5.5 Lijst met methoden per TRIADE-spoor (niet uitputtend), per bodemgebruikscategorie en de toepasbaarheid van de methoden.

(\*\*\* goed; \*\* redelijk; \*matig van toepassing; cursief = methode niet gestandaardiseerd of alleen door gespecialiseerde laboratoria uitvoerbaar)

TRIADE-spoor	Indicator (instrument)	Laag	Bodemgebruik					
			1 Natuur	2 Agrarisch	3 Recreatie en groen	4 Moestuin	5 Tuin	6 Infrastructuur
<b>Chemie</b>	Toxische druk (TD)	1	**	**	**	**	***	***
	<i>PAF-generiek per stof</i>	≥2	*	*	**	*	**	***
	<i>PAF-generiek multi-substance</i>	≥2	**	**	**	**	**	***
	<i>PAF-specifiek doelsoorten</i>	≥2	***	**	**	**	*	*
	<i>PAF-specifiek planten</i>	≥2	***	***	**	***	**	*
	<i>Modellering biobeschikbaarheid</i>	≥2	***	**	**	***	*	*
	<i>Modellering bioaccumulatie</i>	≥2	***	**	*	***	*	*
	<i>Modellering effecten populaties</i>	≥2	***	**	*	*	*	*
	<i>Bioaccumulatie metingen</i>	≥2	***	***	*	***	*	*
<b>Toxicologie</b>	Microtoxtoets (elutriaat)	1	**	**	***	**	***	***
	Rotokit (elutriaat)	1	**	**	***	**	***	***
	<i>PAM-algentoets (elutriaat)</i>	1	**	**	***	**	***	***
	Kiemtest plantenzaden	1/≥2	**	***	***	***	***	***
	Toets overleving regenwormen	1/≥2	**	***	***	***	***	***
	Plantengroei testen.	≥2	***	***	**	***	***	**
	<i>Nematoden: overleving, groei en reproductie</i>	≥2	***	***	**	**	**	*
	Potwormen: overleving, groei, reproductie	≥2	***	***	**	**	*	*
	Regenworm: overleving, groei en reproductie	≥2	***	***	**	**	**	*
	<i>Slakken: reproductietest</i>	≥2	**	**	**	**	*	*
	<i>Pissebed: overleving, groei en reproductie</i>	≥2	***	**	**	**	*	*
	Springstaarten: overleving, reproductie	≥2	***	**	**	**	*	*
	<i>Mijten: overleving, groei, reproductie</i>	≥2	***	**	**	**	*	*
<b>Ecologie</b>	Floristische inventarisatie	1	***	**	**	**	*	*
	Micro-organismen: C- en N-mineralisatie	1	***	***	**	**	**	**
	Bait lamina: vraatactiviteit (wormen)	1	**	*	*	*	*	*
	Nematodeninventarisatie.	1	***	***	**	**	*	*
	Vegetatie-invent.: plant, schimmel, (korst)mos	1/ ≥2	***	**	**	**	*	*
	Micro-organismen: aantal en biomassa	≥2	***	***	**	**	**	**
	<i>Micro-organismen: synthesesnelheid</i>	≥2	***	***	*	*	*	*
	Regenwormeninventarisatie	2	***	***	***	***	**	*
	Fauna-invent.: vlinders, vogels, zoogdieren	≥2	**	**	**	**	*	*
	<i>Micro-organismen: genetische diversiteit</i>	≥2	***	***	**	*	*	*
	<i>Micro-organismen: metabolische div. (Biolog)</i>	≥2	***	**	**	*	*	*
	Potwormeninventarisatie	≥2	***	**	**	**	*	*
	<i>Micro-arthropodeninventarisatie.</i>	≥2	***	*	**	**	**	*
	Decompositie (litterbag methode)	≥2	**	**	*	*	*	*
	Decompositie (tarwestrootje methode)	≥2	**	**	*	*	*	*
	Decompositie (katoenstrookje methode)	≥2	**	*	*	*	*	*
	<i>PICT micro-organismen</i>	≥2	**	**	**	**	**	**

Aansluitend is in de bijlagen een lijst van meetmethoden opgenomen met aanwijzingen voor de toepassing en een toelichting. Een aantal van deze instrumenten wordt nog niet algemeen toegepast, maar zijn wel dusdanig gedocumenteerd dat ze relatief eenvoudig zijn uit te voeren.

Tabel 5.5 laat zien dat de mogelijkheden voor toxicologisch en ecologisch onderzoek omvangrijk zijn. In feite bieden deze instrumenten meer mogelijkheden voor een locatiespecifieke risicoschatting dan methoden gebaseerd op chemische bepalingen. Hierbij moet wel worden bedacht dat bijvoorbeeld een generieke PAF meestal gebaseerd is op enkele tientallen (of meer) toxiciteitgegevens. Tabel 5.5 laat ook zien dat er vaak een beperkt verschil is in de geschiktheid van een meetinstrument voor verschillende vormen van bodemgebruik.

Het bodemgebruik 'natuur' stelt de hoogste eisen aan een ongestoord en zelfstandig ecologisch functioneren. Afhankelijk van de wensen voor het voorkomen van doelsoorten kan hier gericht onderzoek naar risicofactoren worden gedaan. In de tabel is onderscheid gemaakt in laag 1 en laag 2 en verder ( $\geq 2$ ). Sommige categorieën van instrumenten vallen in meerdere lagen, afhankelijk van het ingezette specialisme of diepgang van het onderzoek. Een aantal van de bovengenoemde ecologische indicatoren zijn afgeleid van de 'Bodembioologische Indicator (BoBI)'. Dit is een methodiek die wordt toegepast in een landelijk meetprogramma om de kwaliteit en diversiteit van bodemecosystemen in kaart te brengen (Schouten et al., 2002). Het uitgebreide gegevensbestand kan gebruikt worden om referentiegegevens af te leiden voor bodembioologische karakteristieken bij bepaalde combinaties van grondsoort en bodemgebruik.

#### Onzekerheid en statistische aspecten

De conceptuele onzekerheden bij een risicobeoordeling zijn groot. Het is altijd onzeker of de toegepaste meet- of rekenmethode inderdaad representatief is voor het ecologische risico. Ecosystemen zijn zo complex dat het risico niet met een enkele methode bepaald kan worden. Een *weight of evidence* (WOE) benadering waarbij elkaar aanvullende methoden worden ingezet heeft daarom een duidelijke meerwaarde. De aanname is dat een gespreide inspanning over verschillende TRIADE-sporen een betrouwbaardere beoordeling oplevert dan een in totale omvang gelijke, maar gerichte inspanning binnen een enkel TRIADE-spoor. Om dit in statistische termen te beschrijven: de conceptuele onzekerheden zijn in het algemeen groter dan de onzekerheid door variaties binnen een meet- of rekenmethode. Ter illustratie, als de middelen net toereikend zijn voor een enkelvoudige Microtox bepaling én een enkelvoudige nematodeninventarisatie, of voor één van deze methoden in tweevoud, dan kiest men op basis van de aanname voor de eerste optie. Dat houdt tevens in dat er geen gegevens over de betrouwbaarheid per meet- of rekenmethode beschikbaar komen. Meestal zijn wel ervaringsgegevens voorhanden, die men via Bayesiaanse en probabilistische statistiek mee kan nemen bij de risicobeoordeling.

De hierboven genoemde aanname vormde het vertrekpunt voor de ontwikkeling van de TRIADE tot een instrument voor risicobeoordeling. De auteurs zijn er van overtuigd dat de aanname in zijn algemeenheid geldt, maar dat er specifieke situaties kunnen bestaan waarbij informatie over de variatie binnen een meet- of rekenmethode essentieel is voor de risicobeoordeling.



## 5.4 Berekening van de effecten van verontreiniging

In deze paragraaf wordt kort ingegaan op de schaling van de resultaten van diverse meet- en rekenmethoden naar een maat die relevant is voor ecologische effecten. Het voornaamste doel is om verschillende soorten gegevens uit te drukken in vergelijkbare eenheid, namelijk een 'fractie' of 'percentage' effect. Hierdoor kunnen resultaten van verschillende instrumenten worden vergeleken en zijn aanvullende berekeningen en evaluaties mogelijk. De uitkomsten van de metingen kunnen alleen worden beoordeeld op een afwijking (effect) door ze te vergelijken met relevante referentiegegevens, bijvoorbeeld van een schone, maar verder vergelijkbare locatie of referentiegegevens uit de literatuur. Soms is het ook mogelijk om een historische referentie te gebruiken. Deze laatste is hoofdzakelijk beschikbaar voor terrestrische (bovengrondse) flora en fauna, bijvoorbeeld in de vorm van natuurdoeltypen. Voor de meeste indicatoren is een 'lokaal streefbeeld' nodig, omdat er nog relatief weinig ervaring met de TRIADE is opgedaan.

De keuze van het terrein voor de 'schone' referentie (voor bemonstering of voor ecologische observaties) is tamelijk kritisch en vaak van grote invloed op het berekende effect. Aanbevolen wordt om altijd meerdere referentielocaties te selecteren, of meerdere aanvullende literatuurgegevens. In Rutgers et al. (2001) en Schouten et al. (2003a, b) zijn ervaringen beschreven met het vinden van een geschikte lokale referentie voor een TRIADE-onderzoek. Sommige toxiciteittoetsen hebben (ook) een interne standaard. Hiermee zijn effecten van 'blootstelling aan de referentie' te bepalen.

De grootte van het effect wordt berekend door de waarde van de betreffende indicator op de referentielocatie op 100% te stellen. Vervolgens wordt het verschil met de waarde in het verontreinigde terrein, of monsters daaruit, bepaald en uitgedrukt in een percentage (c.q. fractie) effect. De uiteindelijke beoordeling of toetsing hiervan ('hoe erg is dat') is vooral een beleidsmatige keuze die in hoofdstuk 6 wordt besproken.

De rekenwijze om van een meetwaarde naar effect te komen verschilt enigszins per categorie van instrumenten. In sommige gevallen kunnen specifieke en niet-lineaire 'concentratie-effect relaties' worden gebruikt. De rekenmethoden worden hier in grote lijnen besproken en in de bijlagen uitgebreider toegelicht.

In het TRIADE-spoor chemie wordt de gecombineerde Toxische Druk (TD) gebruikt om een potentieel ecologisch effect te schatten. Deze methode is een aanzienlijke verbetering van de wijze waarop in SUS HC<sub>50</sub>-overschrijdingen worden opgeteld. De TD maakt gebruik van (het bekende) logistische model voor de relatie tussen concentraties en effecten, de zogenaamde 'Species Sensitivity Distribution' (Posthuma et al., 2002). De vorm van de curve ligt vast en de parametrisering vindt plaats met een  $\alpha$  en  $\beta$ . Hierbij is  $\alpha$  gelijk aan de HC<sub>50</sub> van een stof. Voor  $\beta$  kan een vaste waarde van 0,4 gekozen worden, maar beter is de  $\beta$  te berekenen uit de toxiciteitgegevens in de literatuur. De HC<sub>50</sub>-waarde is gelijk aan de algemeen geldende (generieke) norm die door INS worden afgeleid (INS, 1999). Effecten van stoffen zijn dus niet lineair met de concentratie en er zijn rekenregels beschikbaar voor het optellen van het effect van meerdere stoffen, en de correctie voor de natuurlijke achtergrond.

In principe kunnen meer specifieke HC<sub>50</sub>-waarden worden afgeleid (bijvoorbeeld voor planten, doelsoorten) op basis van andere literatuurselecties over toxiciteittoetsen. Deze

werkwijze wordt onder andere voor de PAF toegepast. Het is ook mogelijk om een andere waarde dan de  $HC_{50}$  te gebruiken, bijvoorbeeld de 50<sup>ste</sup> percentiel van de relatie tussen de concentratie en de cumulatieve frequentieverdeling van  $LC_{50}$ - en  $EC_{50}$ -waarden (de  $HC_{50}$  is op NOEC-waarden gebaseerd). Zie voor een nadere toelichting (Rutgers et al., 2000a, Rutgers et al., 2005).

In toxiciteittoetsen en bioassays kan de mate van effect eenvoudig worden bepaald door de 'prestatie' (bijvoorbeeld % kieming) in de lokale referentie als 100% te beschouwen. De resultaten van de te beoordelen grondmonsters worden vervolgens uitgedrukt ten opzichte van de gekozen referentie. Soms worden meerdere soorten waarnemingen gedaan ('multi-endpoints') in één bioassay. Deze kunnen als aparte indicatoren worden gebruikt maar ook worden omgerekend tot een gemiddeld effect voor één indicator. In het volgende hoofdstuk komen rekenmethodes hiervoor aan bod.

In het algemeen wordt bij bioassays een proportioneel verband aangehouden tussen prestatie en het effect. 50% groeireductie ten opzichte van de referentie wordt bijvoorbeeld als 50% effect beschouwd. Er kunnen echter redenen zijn om het effect anders te berekenen. In een dergelijk geval wordt er, al dan niet rekenkundig, een specifieke prestatie-effect curve gedefinieerd. Op dit moment zijn er nog geen algemeen geaccepteerde methoden aanwezig voor dergelijke berekeningen, maar via expert judgement kunnen valide argumenten aangevoerd om een dergelijke curve toe te passen.

De berekening van de 'fractie' of het 'percentage' effect op basis van de resultaten van veldonderzoek is iets gecompliceerder, omdat de indicatoren bij een verontreinigingssituatie niet per definitie minder gaan presteren ('de één zijn dood, de ander zijn brood'; is vaak van toepassing bij verontreinigde ecosystemen). Dit is op te lossen door het verschil van de lokale referentie 'absoluut te nemen' en zowel positieve als negatieve afwijkingen als een effect te beschouwen. Voor de resultaten van veldonderzoek zal het vaker nodig zijn om specifieke prestatie-effect relaties te definiëren, juist vanwege deze onvoorziene gebeurtenissen bij verontreinigde ecosystemen. Voor de Maturity Index van de nematodengemeenschap is een dergelijke relatie gedefinieerd bij de ontwikkeling van de TRIADE (Rutgers et al., 2001).

## 6 Toetsing van de resultaten voor risicobeoordeling

### 6.1 Inleiding

Het uitgangspunt voor de risicobeoordeling is een set kwantitatieve gegevens over de ecologische effecten op de betreffende locatie, inclusief het oppervlak van de verontreiniging, geschat met behulp van een TRIADE-onderzoek en afkomstig uit één of meerdere onderzoekslagen. De vraag is hoe met deze set gegevens tot een beslissing kan worden gekomen, in termen van risico's. De onderliggende vraag is of het ecosysteem dusdanige effecten ondervindt, dat het bodemgebruik nu of in de toekomst gehinderd wordt als gevolg van de aanwezige bodemverontreiniging.

Voor beslissingen moet er een beleidsmatige keuze gemaakt worden wat nog een acceptabel effect is, en wat niet, op een kwantitatieve schaal. Deze schaal loopt van 0 (geen effecten of verschillen ten opzichte van referentielocatie) tot 1 (maximale effecten van de verontreiniging). Tevens is het relevante bodemgebruik bekend, en de omvang van het gebied waar de ecologische effecten in zijn bepaald (de contouren). Bij de bepaling van de criteria voor de risicobeoordeling spelen beleidsmatige en beheersmatige aspecten een grote rol, zoals de optie voor aanpassing van het bodemgebruik, een optimale inrichting van de locatie, de mogelijkheden voor sanering, of implementatie van specifiek bodembeheer gericht op het reduceren van de risico's. Deze aspecten kunnen voor elke locatie specifiek worden ingevuld, en de Basisbenadering voorziet in een raamwerk om daar op een praktische wijze invulling aan te geven (Rutgers et al., 1998a). Omdat veel locaties in Nederland beoordeeld moeten kunnen worden met een eenvoudige systematiek, is in dit hoofdstuk en hoofdstuk 5 een voorstel gedaan voor een eenvoudig opzet van de risicobeoordeling, waarbij aansluiting gezocht werd bij de bruikbare onderdelen van de huidige Urgentiesystematiek (SUS). Dit idee bouwt voort op het voorstel van Rutgers et al. (2000a). Tevens wordt een voorstel gedaan voor een uniforme presentatiewijze van resultaten van TRIADE-onderzoek, in een zogenaamde TRIADE-matrix (Rutgers et al., 2001; Rutgers et al., 2005; Schouten et al., 2003a; Schouten et al., 2003b). Met een dergelijke tabel blijven de onderliggende resultaten zichtbaar, terwijl een overzicht van het complete onderzoek verkregen wordt.

### 6.2 Risicobeoordeling met de 1<sup>e</sup> onderzoekslaag

Voor de eerste laag in de beoordeling worden eenvoudige rekenregels gehanteerd en wordt aangesloten bij elementen uit SUS, voor zover ze bruikbaar zijn voor de risicobeoordeling met de TRIADE. Het onderhavige ecosysteem wordt beoordeeld op algemene ecologische eigenschappen. Dat betekent dat er een combinatie gemaakt wordt van het niveau van de gemeten effecten met testen die een generieke betekenis hebben bij de ecologische risicobeoordeling (generieke soortensamenstelling; of gevoelig voor veel typen verontreiniging) en de oppervlakte waarop de effecten gemeten zijn, ongeveer zoals bij de zogenoemde oppervlaktetabel uit SUS (Koolenbrander, 1995).

Hiertoe worden drie niveaus van gevoeligheid onderscheiden (gevoelig, matig gevoelig, relatief ongevoelig), waaronder de verschillende typen bodemgebruik gerangschikt worden, ook conform SUS. Tevens worden er drie effectniveaus en vier oppervlaktematen onderscheiden (tabel 6.1). Het is van belang te onderkennen dat bij de onderliggende keuzes voor de criteria beheers- en beleidsmatige afwegingen een rol moeten spelen. Bij de richtlijn zoals besproken in dit rapport is dit in beperkte mate gebeurd. In plaats daarvan is aansluiting gezocht bij de achterliggende overwegingen zoals die bij toepassing van SUS impliciet worden gebruikt. In die zin kan de in dit rapport beschreven richtlijn als verbetering van SUS worden beschouwd. De beduidende verbetering wordt verkregen door de beoordeling op alle drie de sporen van de TRIADE te baseren, en niet alleen op de aanwezigheid van de verontreiniging.

*Tabel 6.1 Te gebruiken grenzen voor de risicobeoordeling bij resultaten van de eerste onderzoekslaag, namelijk voor de gevoeligheid van het ecosysteem, de mate van gemeten of berekende effecten, en de oppervlakte van het aangetaste gebied. Deze indeling is gedeeltelijk afgeleid van SUS (Koolenbrander, 1995).*

Gevoeligheid ecosysteem	Gevoelig Matig gevoelig Relatief ongevoelig
Te onderscheiden effectniveaus	0 – 0,2 (niet beduidend aangetast) 0,2 – 0,5 (aantasting waargenomen) 0,5 – 1 (substantiële aantasting)
Oppervlaktematen voor aangetast gebied	< 50 m <sup>2</sup> 50 – 5000 m <sup>2</sup> 5000 m <sup>2</sup> – 0,5 km <sup>2</sup> > 0,5 km <sup>2</sup>

*Tabel 6.2 Voorbeeld van een eenvoudige TRIADE-matrix, met resultaten (gebaseerd op bestaande gegevens) van de verschillende TRIADE-sporen geprojecteerd op de effectschaal (0 is geen ecologisch effect, 1 is maximaal effect), en de berekende deviatie factor. Bij monster 1 zijn de verschillen tussen de TRIADE-sporen groot (zie ook tabel 5.1 voor de grove interpretatie van deze resultaten). Bij monster 2 zijn de verschillen klein, en de effectniveaus hoog, zodat hier het risico (gemiddeld 0,83) onacceptabel geacht moet worden (afhankelijk van oppervlaktecontour).*

		Referentiemonster	Monster 1	Monster 2
<b>Chemie</b>	Som TD (metalen)	0,00	0,49	0,77
<b>Toxicologie</b>	Microtox test	0,00	0,95	0,95
<b>Ecologie</b>	Nematoden biomassa	0,00	0,00	0,68
Geïntegreerd risico		0,00	0,70	0,83
<b>Deviatie</b>		<b>0,00</b>	<b>0,82</b>	<b>0,27</b>

Als eerste stap tot de risicobeoordeling worden de resultaten van het TRIADE-onderzoek in een zogenaamde TRIADE-matrix verwerkt. Deze presentatiewijze werd door Van der Waarde et al. (2001) ontwikkeld en verder verfijnd door Rutgers et al. (2001). In tabel 6.2 is een voorbeeld van een eenvoudige TRIADE-matrix weergegeven. In de matrix zijn de resultaten van de verschillende testen aangegeven, en gesorteerd per TRIADE-spoor, voor de referentiemonsters (één of meer) en voor elk monster binnen de verontreinigde contouren van de locatie. Desgewenst kan aan het gemeten effectniveau een achtergrondkleur worden meegegeven, bijvoorbeeld volgens de te onderscheiden effectniveaus in tabel 6.1. Een achtergrondkleur helpt om snel de grote lijnen uit de veelheid aan gegevens te vinden. De eerste overwegingen betreffen de toepassing van de *weight of evidence* (WOE) voor de verschillende sporen in de TRIADE. Wanneer de drie sporen een gelijk effectniveau laten zien, dan is de WOE maximaal, en mag verwacht worden dat de onzekerheid in de bepaling van effecten gering is. Een mogelijkheid om de mate van verschil tussen de sporen te kwantificeren werd voorgesteld door (Rutgers et al., 2001):

$$\text{Deviatie} = \text{standaard afwijking (chemie, toxicologie, ecologie)} \times 1,73$$

De waarde voor de deviatie bij de drie TRIADE-sporen varieert theoretisch van 0 (volledige overeenstemming tussen de sporen) tot maximaal 1 (maximaal verschil tussen de sporen). Er is nog te weinig praktijkervaring om exact aan te geven wanneer de TRIADE-sporen in redelijk mate overeenstemmen, en wanneer de verschillen groot zijn.

Als richtwaarde voor voldoende overeenstemming kan 0,4 worden gehanteerd, maar gebruik van een kritische grens voor de deviatie is tevens afhankelijk van het niveau waarop effecten worden waargenomen. Als het gemiddelde effectniveau laag is of juist hoog, kan volstaan worden met een andere kritische grenswaarde voor de deviatie.

Uiteindelijk dient er een beoordeling over het geheel plaats te vinden, in termen van: het risico van de verontreiniging is acceptabel voor het beoogde bodemgebruik, of niet acceptabel (Rutgers et al., 1998a). Met de kritische grenzen van tabel 6.1, en criteria die van SUS zijn afgeleid, kan men tot een waardering van de gemeten effecten komen (tabel 6.3). De drie uitkomsten van de drie TRIADE-sporen kunnen rekenkundig gemiddeld worden, maar dat is niet noodzakelijk. Feitelijk zijn de TRIADE-sporen te zeer verschillend om een verantwoord gemiddelde te berekenen. Het voorstel is om dit eventueel te doen via het geometrische gemiddelde van het inverse effect, teneinde enige nadruk te leggen op die uitkomsten die hoge effectniveaus vertonen, vanwege de veronderstelde ongevoeligheid van bioassays en ecologische waarnemingen (zie bijlage 1.8).

*Tabel 6.3 Schema voor de beoordeling van de locatiespecifieke ecologische risico's op basis van resultaten uit de 1<sup>e</sup> onderzoekslaag (eenvoudige, generieke risicobeoordeling). De tabel is een aanpassing van SUS (Koolenbrander, 1995). Er wordt verondersteld dat de effecten niet acceptabel zijn, wanneer het gemiddelde gemeten effectniveau binnen een contour de aangegeven oppervlakte overschrijdt.*

Bodemgebruik	Oppervlakte verontreiniging ( 0,2 < effect < 0,5 )	Oppervlakte verontreiniging ( effect > 0,5 )
Natuur en EHS Landbouw	< 50 m <sup>2</sup>	< 50 m <sup>2</sup>
Tuin Moestuin, volkstuin Recreatie gebieden en Recreatief groen	< 5000 m <sup>2</sup>	< 50 m <sup>2</sup>
Infrastructuur Industrie	< 0,5 km <sup>2</sup>	< 5000 m <sup>2</sup>

### 6.3 Risicobeoordeling bij opvolgende onderzoekslagen

Met behulp van de stappen in de Basisbenadering is het instrumentarium voor ecologische risicobeoordeling samengesteld, inclusief de criteria om de resultaten te beoordelen. De resultaten kunnen op dezelfde wijze samengevoegd worden in een TRIADE-matrix, als bij een eenvoudige beoordeling in laag 1 (tabel 6.4). De TRIADE-matrix als presentatiewijze geeft de mogelijkheid alle relevante uitkomsten weer te geven, met behoud van het overzicht over het totale onderzoek. De relevante patronen zijn herkenbaar, en kunnen geëvalueerd worden ten behoeve van de risicobeoordeling.

Tabel 6.4 Voorbeeld van een TRIADE-matrix met resultaten uit een opvolgende onderzoekslaag van de risicobeoordeling, inclusief integratie. Voor het overzicht is een achtergrondkleuring toegepast, met grenzen van 0,2 en 0,5. De waardering van de effecten wordt per locatie vastgesteld, volgens de stappen in de Basisbenadering (Rutgers et al., 1998a).

	Referentie	Monster 1	Monster 2	
<b>Chemie</b>	Som TD (metalen)	0,00	<b>0,49</b>	<b>0,77</b>
	Som TD (metaal beschikbaar)	0,00	<b>0,54</b>	<b>0,74</b>
	<i>Integratie</i>	<i>0,00</i>	<i>0,52</i>	<i>0,76</i>
<b>Toxicologie</b>	Microtox test	0,00	<b>0,95</b>	<b>0,95</b>
	Kieming sla	0,00	<b>0,52</b>	0,09
	Groei sla	0,00	<b>0,26</b>	<b>0,60</b>
	Regenwormen overleving	0,07	0,15	<b>0,67</b>
	Regenwormen groei	0,00	0,02	0,06
	<i>integratie</i>	<i>0,01</i>	<i>0,57</i>	<i>0,64</i>
<b>Ecologie</b>	Nematoden aantallen	0,00	0,00	<b>0,68</b>
	Nematoden M index	0,00	0,00	<b>0,65</b>
	Arthropoden reproductie	0,00	<b>0,20</b>	<b>0,50</b>
	Micro-organismen biomassa	0,00	<b>0,81</b>	<b>0,78</b>
	<i>integratie</i>	<i>0,00</i>	<i>0,38</i>	<i>0,67</i>
Integratie chemie	0,00	<b>0,52</b>	<b>0,76</b>	
Integratie toxicologie	0,01	<b>0,57</b>	<b>0,64</b>	
Integratie ecologie	0,00	<b>0,38</b>	<b>0,67</b>	
Geïntegreerd risico	<i>0,00</i>	<i>0,50</i>	<i>0,69</i>	
Deviatie	<b>0,01</b>	<b>0,17</b>	<b>0,11</b>	

## 6.4 Schatten van geïntegreerde effecten, schalen en wegen

Er is een aantal mogelijkheden om de verschillende kwantitatieve resultaten toe te passen ten behoeve van de risicobeoordeling. Het belangrijkste aspect van de TRIADE is de aanpak volgens de *weight of evidence* (WOE). Met WOE wordt het inzicht verkregen of de onzekerheden met betrekking tot de inschatting van ecologische effecten voldoende gereduceerd zijn om tot een afgewogen conclusie te komen, of dat er aanvullend onderzoek nodig is. Achtereenvolgens worden overwegingen bij de toepassing en toetsing van de kwantitatieve gegevens voor chemie, toxicologie en ecologie kort behandeld.

### 6.4.1 Chemie

Wanneer het onderzoek wordt opgezet volgens de richtlijnen voor een 1<sup>e</sup> beoordelingslaag, dan is de ervaring dat in veel gevallen het chemische TRIADE-spoor hogere effectscores laat zien dan de andere TRIADE-sporen. Dit heeft te maken met het feit dat voor het chemische spoor dezelfde toxiciteitgegevens (NOEC-waarden) gebruikt worden als bij de afleiding van normen (streefwaarden, interventiewaarden) en met het feit dat de beoordeling gebaseerd wordt op totaalconcentraties van de verontreiniging op de locatie. Wanneer met beide aspecten rekening wordt gehouden, kan blijken dat het risico eventueel lager moet worden geschat, maar dat hoeft niet het geval te zijn.

In plaats van NOEC-waarden kan overwogen worden de chemische beoordeling te baseren op EC<sub>50</sub>- en LC<sub>50</sub>-waarden. Immers het lijkt vreemd om een beoordeling te baseren op NOEC (No-Observed Effect Concentration) waarden, terwijl er al sprake is van een betekenisvolle verontreinigingssituatie, waar effecten op bepaalde aspecten van het ecosysteem te verwachten zijn. Veel bioassays worden beoordeeld op effectniveaus die vergelijkbaar zijn met EC<sub>50</sub>- en LC<sub>50</sub>-waarden. Dit betekent dat de TRIADE-sporen chemie en toxicologie slechts een gelijkkluidend signaal kunnen afgeven, als het chemische spoor op basis van LC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>-waarden wordt beoordeeld.

In plaats van de beoordeling te baseren op totaalconcentraties van de verontreiniging, kan rekening worden gehouden met de zogenaamde ‘biobeschikbare’ fractie. Wanneer dit consequent wordt uitgevoerd dient er ook gebruik te worden gemaakt van een andere set van toxiciteitgegevens, waar dezelfde overwegingen in verwerkt moeten zijn. De ervaring leert dat bij klei- en veenbodems biobeschikbaarheidsoverwegingen een groot effect kunnen hebben op de effectschattingen, terwijl bij zanderige bodems met een laag organische stof gehalte dit vaak minder het geval is.

Een derde mogelijkheid is om een deelset van toxiciteitgegevens te gebruiken, namelijk die gegevens die voor de betreffende locatie van specifiek belang zijn. Men kan bijvoorbeeld besluiten dat gegevens van bovengrondse soorten er minder toe doen. Ook kunnen verschillende deelsets afzonderlijk worden gebruikt en worden de resultaten geïntegreerd via weegfactoren, belangrijke aspecten krijgen dan een groter gewicht toegekend.



### 6.4.2 Toxicologie

Bij het opstellen van een onderzoeksplan voor de toepassing van bioassays, is een bruikbaar uitgangspunt het inzetten van bioassays met een gemiddelde gevoeligheid voor een scala aan verontreinigde stoffen. Volgens het adagium ‘alle organismen zijn verschillend’ zal elke bioassay een andere gevoeligheid hebben voor een verontreinigd monster, en dus een ander testresultaat laten zien. De uitslag van een enkele bioassay is bruikbaar voor een eenvoudige risicobeoordeling, maar het toepassen van een batterij bioassays geeft uiteraard een completer beeld.

Bij de integratie van de testresultaten van verschillende bioassays kunnen de volgende overwegingen toegepast worden:

- Men neemt aan dat (acute) bioassays vaak relatief ongevoelig zijn voor verontreinigingen, omdat de testen relatief kort duren, de blootstelling soms niet vergelijkbaar is met de condities in het veld, en de eindpunten vaak ongevoelig zijn (bijvoorbeeld overleving). Vanwege dit inzicht wordt aanbevolen om extra gewicht toe te kennen aan de bioassays waarbij effecten geconstateerd worden. Een eenvoudige en geaccepteerde methode is het geometrische gemiddelde van het inverse effect. Na terugtransformatie ontstaat het geïntegreerde (gemiddelde) risico.
- Naast het ‘niet specifiek wegen’ via het geometrisch gemiddelde, kan overwogen worden om bepaalde bioassays een groter gewicht toe te kennen dan andere bioassays, afhankelijk van locatiespecifieke karakteristieken (bioassays met een bewezen gevoeligheid voor het type verontreiniging, bioassays die de oorzaak-gevolg-relatie ondersteunen, etc.).
- De schaling van de bioassayresultaten op de effectschaal, kan naar specifieke inzichten aangepast worden. Het is enigszins arbitrair hoe kwantitatieve gegevens over bijvoorbeeld een verminderde lichtopbrengst bij luminescerende bacteriën (Microtox bepaling) verwerkt moeten worden tot een effectgetal op de schaal van 0 tot 1. Gemakshalve wordt 50% remming van de lichtopbrengst eenvoudigweg 1 op 1 geschaald tot een niveau van 0,5 op de effectschaal voor ecosystemen, maar evengoed kunnen andere relaties gebruikt worden.

### 6.4.3 Ecologie

Ecologische observaties spreken het meest tot de verbeelding, omdat ze direct gerelateerd kunnen worden aan het ecosysteem, en tenslotte is het bij de risicobeoordeling om het ecosysteem te doen. Aan de andere kant kunnen de waargenomen ecologische verschillen tussen de verontreinigde locatie en een referentielocatie vaak moeilijk alleen aan de verontreiniging gekoppeld worden. Als de waargenomen verschillen volledig verklaard kunnen worden met andere factoren, zoals verstoring of specifieke bodemeigenschappen, dan kunnen de resultaten niet goed worden toegepast bij de risicobeoordeling (zogenoemde type 2 fout). Het is dus essentieel ruime aandacht te schenken aan bruikbare referentielocaties, of referentiegegevens. Elk type veldwaarneming stelt zijn eigen eisen aan goede referentiegegevens. Alleen wanneer een exacte kopie van de locatie wordt aangetroffen, zonder de verontreiniging, kan men spreken van een ideale referentie. In de praktijk wordt die zelden aangetroffen, omdat elk ecosysteem uniek is. Het alternatief is om meerdere referentiemonsters te selecteren, of te putten uit literatuurgegevens.

Bij de toepassing van ecologische veldwaarnemingen gelden een aantal overwegingen, sommigen gelden ook bij de toepassing van bioassays:

- Men neemt aan dat ecologische veldwaarnemingen ongevoelig zijn, omdat de *confounding* factoren (factoren die de waarneming beïnvloeden, maar geen relatie hebben met de verontreiniging, zoals verdroging, lage pH, etc.) het noodzakelijk maken om veel monsters te analyseren, en het vaak ingewikkeld is om gevoelige eindpunten (zoals reproductie of soortensamenstelling) te selecteren. Door redundantie lijkt een ecosysteem vaak goed te functioneren, terwijl het wel is aangetast door de verontreiniging. Vanwege dit inzicht wordt aanbevolen om extra gewicht toe te kennen aan de veldwaarnemingen waarbij effecten geconstateerd worden. Een eenvoudige en geaccepteerde methode is het geometrische gemiddelde van de omgekeerde effecten toe te passen. Na terugtransformatie ontstaat het geïntegreerde risico.
- Evenals bij het TRIADE-spoor toxicologie kan naast de ongerichte weging via het geometrisch gemiddelde, overwogen worden om bepaalde veldwaarnemingen een groter gewicht toe te kennen dan andere, afhankelijk van locatiespecifieke karakteristieken (veldwaarneming met een bewezen gevoeligheid voor het type verontreiniging, en die de oorzaak-gevolg-relatie ondersteunen, etc.).
- De schaling van de resultaten van veldwaarnemingen op de effectschaal voor ecosystemen, kan naar specifieke inzichten aangepast worden. Het is enigszins arbitrair hoe kwantitatieve gegevens over bijvoorbeeld verminderde biomassa van micro-organismen verwerkt moeten worden tot een effectgetal op de schaal van 0 tot 1. Gemakshalve wordt 50% lagere biomassa eenvoudigweg 1 op 1 geschaald tot een niveau van 0,5 op de effectschaal voor ecosystemen, maar evengoed kunnen andere relaties gebruikt worden.
- ‘De één zijn dood is de ander zijn brood’ is een adagium dat toegepast kan worden bij veldonderzoek op verontreinigde locaties. Dat betekent dat positieve verschillen vaak ook aan de verontreiniging toegeschreven kunnen worden, en beschouwd moeten worden als indicatie voor een ‘ecosysteem uit balans’. Dit kan bijvoorbeeld opgelost worden door de verschillen absoluut te nemen, en vervolgens de schaling naar effecten uit te voeren.
- Bij veldonderzoek worden vaak meerdere parameters bepaald, bijvoorbeeld de soortensamenstelling en de aantallen binnen een levensgemeenschap. Multivariate technieken kunnen ingezet worden om de maximale informatie uit deze enorme hoeveelheid gegevens te halen.

#### **6.4.4 Integratie TRIADE-sporen**

Idealiter zullen de resultaten van afzonderlijk TRIADE-sporen, bij een toenemende onderzoeksinspanning, convergeren. Immers, bij het toevoegen van informatie over ecologische effecten, ontstaat een steeds completer beeld van het ecosysteem, over drie onafhankelijke sporen. Bij de door het RIVM en anderen uitgevoerde praktijkonderzoeken blijkt dit inderdaad op te treden (Rutgers et al., 2001; Schouten et al., 2003a; Schouten et al., 2003b). De grondslag voor de beoordeling is completer en beter onderbouwd, omdat de verschillen tussen de TRIADE-sporen kleiner worden. Toch kunnen ook hier enige kanttekeningen bij gemaakt worden:

- De TRIADE-sporen chemie en toxicologie zijn minder onafhankelijk van elkaar als men in eerste instantie zou denken. Beide zijn stofgericht, en maken gebruik van (standaard) toxiciteitstesten om de verontreinigingssituatie in te schatten. Dit gebeurt echter volgens verschillende wegen. Toch is het voorstelbaar dat deze twee sporen in een later stadium gecombineerd worden, en integraal vergeleken worden met de uitslagen van de ecologische veldwaarnemingen. Er ontstaan dan twee sporen, namelijk een stofgericht spoor en een spoor gericht op ecologische veldwaarnemingen.
- Bij het toevoegen van informatie zullen de resultaten van de diverse TRIADE-sporen eerst convergeren, maar uiteindelijk vaste verschillen laten zien. Dit heeft te maken met het feit dat voor de schaling en de weging van de afzonderlijke elementen arbitraire keuzes gemaakt moesten worden. Uiteindelijk kan de kwantitatieve kennis over dit verschil tussen de TRIADE-sporen gebruikt worden om tot heroverweging van de arbitraire keuzes te komen, zodat de intrinsieke verschillen tussen de TRIADE-sporen verdwijnen. Het is bijvoorbeeld goed mogelijk dat het chemische TRIADE-spoor in veel gevallen tot een hogere effectschatting leidt dan het toxiciteitspoor. Een potentiële oplossing is de toepassing van  $LC_{50}$ - en  $EC_{50}$ -waarden in plaats van NOEC-waarden.



## 7 Conclusies en aanbevelingen

### 7.1 Conclusies

Uit de rapportage zijn de volgende conclusies te trekken:

- De TRIADE, ontwikkeld voor de locatiespecifieke beoordeling van ecologische risico's ten gevolge van bodemverontreiniging, heeft twee kenmerken. Ten eerste worden ecologische risico's beoordeeld via drie 'sporen': chemie, toxicologie en ecologie. Ten tweede is de TRIADE in onderzoekslagen opgebouwd. In iedere hogere laag neemt de complexiteit, de realiteit, de mate van locatiespecificiteit en de benodigde inspanning toe. Dit heeft tot gevolg dat de onderbouwing, betrouwbaarheid en efficiëntie van de ecologische beoordeling met de TRIADE sterk verbeterd is ten opzichte van de beoordelingsmethodiek, zoals opgenomen in de SaneringsUrgentie Systematiek (SUS).
- Er is een eerste opzet van een richtlijn opgesteld, waarmee de locatiespecifieke ecologische risico's met behulp van de TRIADE te beoordelen zijn. De richtlijn zal in de nabije toekomst verder ontwikkeld worden, samen met andere partijen (kennisinstituten, adviesbureaus, universiteiten), mede binnen het Platform ecologische risicobeoordeling (PERISCOOP). Bovendien zal de praktische invulling van de richtlijn worden getest met medewerking van een aantal potentiële gebruikers van de TRIADE. De auteurs nodigen iedereen uit om op de huidige versie van de richtlijn te reageren. Hierbij is zowel de wetenschappelijke uitwerking, evenals de mogelijkheden voor uniforme en pragmatische toepassing van belang.
- De richtlijn bestaat uit twee gedeelten: i) een richtlijn voor de praktische uitvoering van de verschillende lagen in de TRIADE en ii) de daaropvolgende integratie van de beoordelingen uit de drie sporen en bijbehorende toetsing. In de richtlijn voor de praktische uitvoering van de TRIADE is een min of meer standaardmethode voor de invulling van de drie sporen in de eerste onderzoekslaag beschreven: *chemische beoordeling* op basis van het totaalgehalte, *toxicologische beoordeling* door middel van eenvoudige (kortdurende) acute testen en een *ecologische beoordeling* op basis van expert judgement, snelle veldinventarisatie en simpele bodembioologische analyse. Voor de hogere onderzoekslagen is geen gestandaardiseerd stramien voorgeschreven, maar is een algemene procedure voorgesteld, waarbinnen keuzen kunnen worden gemaakt voor testen en beoordelingsmethoden binnen alle drie de sporen. Ten behoeve van de integratie van de beoordelingen uit de drie sporen en de bijbehorende toetsing is een matrix opgesteld, welke voor de drie sporen en een aantal onderzoekslagen effectscores weergeeft. Tevens zijn de effectscores in deze matrix geïntegreerd, op basis waarvan een *overall* uitspraak over de ecologische risico's ten gevolge van bodemverontreiniging gegeven is, voor een specifieke locatie.
- De TRIADE kan op termijn een onderdeel vormen van het nieuwe bodembeleid, zoals geformuleerd in de Beleidsbrief Bodem van december 2003 en die op dit moment wordt uitgewerkt. Wanneer ecologische risico's een onderdeel uitmaken van het Saneringscriterium en/of van een procedure voor de lokaal vast te stellen

BodemAmbitieniveaus, dan kan de TRIADE daarvoor worden ingezet. Voor dergelijke belangrijke toepassingen is in deze rapportage een eerste opzet van een richtlijn gegeven. De richtlijn komt tevens tegemoet aan de veelgehoorde wens van het bevoegde gezag, om inzicht te verkrijgen in de mogelijkheden voor toepassing en interpretatie van de resultaten van de TRIADE door derden. Tenslotte kan de TRIADE in meer algemene zin worden gebruikt om de kansen voor specifieke vormen van bodemgebruik (met name het bodemgebruik Natuur, bijvoorbeeld op voormalige landbouwgronden) te onderzoeken.

## 7.2 Aanbevelingen

Naar aanleiding van de rapportage zijn de volgende aanbevelingen te doen:

- Afhankelijk van de formele positionering van de TRIADE zal de richtlijn in overleg met ‘het beleid’ in een volgende fase in een op het specifieke doel afgestemde vorm moeten worden gegoten (bijvoorbeeld in de vorm van een *Decision Support System*, of een protocol).
- De richtlijn voor de TRIADE zal in de nabije toekomst verder ontwikkeld moeten worden, samen met andere partijen (kennisinstituten, adviesbureaus, universiteiten), mede binnen het platform ecologische risicobeoordeling (PERISCOOP). Hierbij zullen tevens eventuele reacties van derden in beschouwing worden genomen. Bovendien zal de praktische invulling van de richtlijn worden getest met medewerking van een aantal potentiële gebruikers van de TRIADE.
- De TRIADE zal afgestemd moeten worden op de ontwikkeling van Europees beleid voor bodem in het kader van de European Strategy for Soil en de European Water and Soil Directive.
- Voor verdere ontwikkeling en verbetering van testen en meetmethoden zal naar nationale (via de onderzoeksinstituten, onder andere Alterra en RIZA) en internationale (via de internationale onderzoeksprogramma’s LIBERATION, ERAMANIA) afstemming moeten worden gestreefd.

# Bijlage: Meet- en rekeninstrumenten

## Bijlage 1. Algemeen

Voor de ‘gereedschapskist’ van de TRIADE zijn vele methoden beschikbaar. Ze variëren van zeer eenvoudig tot veelomvattend en complex, en zijn nog in het ontwikkelingsstadium of sterk gestandaardiseerd en beschreven in ISO en OECD richtlijnen. Bovendien zijn deze instrumenten verankerd in verschillende disciplines (bodemchemie, ecotoxicologie, toxicologie, biochemie, fysiologie, moleculaire biologie, microbiologie, ecologie, etc.). Om richting te geven aan de eisen die aan een methode of test worden gesteld voor toepassing binnen de TRIADE en een locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling, worden in deze bijlage algemene criteria gegeven. Deze criteria, uitgesplitst in verschillende onderdelen, worden in de opvolgende bijlagen per meet- of rekeninstrument nader uitgewerkt.

De in deze bijlagen beschreven set met meet- en rekeninstrumenten is slechts een beperkte deelverzameling van alle potentiële instrumenten voor de TRIADE. In tabel 3 en tabel 4 is aangegeven welke instrumenten in deze bijlagen zijn uitgewerkt, en voor welke instrumenten de literatuur geraadpleegd dient te worden. Het valt bovendien te verwachten dat er steeds nieuwe instrumenten bijkomen. Op het gebied van de ‘ecotoxicogenomics’ bijvoorbeeld worden veelbelovende mogelijkheden verwacht voor de ontwikkeling van nieuwe en krachtige methoden op basis van moleculaire en biochemische technieken.

### *1.1 Doel van de test en procedure voor toepassing*

De basisprincipes en werkingsmechanismen voor elke meet- of rekenmethode worden in deze bijlagen kort omschreven. Ook wordt aangegeven welke positie de methode inneemt binnen de TRIADE, wat de betekenis is van de resultaten in termen van ecologische risico's, de mate van standaardisatie en wat de globale onderzoeksinspanning is, zodat bepaald kan worden waar en in welke onderzoeksloop de methode past.

### *1.2 Ecologische relevantie*

Het moet aannemelijk te maken zijn dat met het meet- of rekeninstrument data gegenereerd kunnen worden die een ecologische betekenis hebben, via algemene ecologische eisen die aan elk ecosysteem gesteld kunnen worden (bijvoorbeeld de life support functies), via specifieke eisen die aan het betreffende ecosysteem gesteld kunnen worden (bijvoorbeeld het voorkomen van specifieke soorten) of via specifieke ecologische eisen die voortvloeien uit het bodemgebruik (bijvoorbeeld het voorkomen van doelsoorten, of landbouwkundige aspecten). In principe komen alle ecologische kenmerken in aanmerking, van suborganismaal niveau tot op het niveau van levensgemeenschappen. De relevantie van een effect van verontreiniging op levensgemeenschappen is vaak eenvoudiger aan te geven dan een effect op het niveau van bijvoorbeeld een cel of celorganel dat via een biomarker kan worden aangetoond. Aan de andere kant zijn veranderingen op gemeenschapsniveau vaak niet

eenduidig aan de verontreiniging te koppelen en zijn er soms ingewikkelde modellen voor nodig, terwijl de respons van bijvoorbeeld een biomarker heel specifiek kan zijn voor een stof.

### ***1.3 Gevoeligheid***

Het moet aannemelijk gemaakt worden dat het instrument een redelijke gevoeligheid heeft, om toe te passen bij de locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling. Met andere woorden, het is niet altijd nodig om het meest gevoelige meet- of rekeninstrument te selecteren. Voor eenvoudige beoordelingen met relatief hoge concentraties verontreinigende stoffen volstaat vaak een relatief ongevoelig, maar eenvoudig te implementeren, instrumentarium. Daarnaast heeft elk meet- of rekeninstrument een specifieke gevoeligheid voor bepaald type stoffen en blootstellingsroutes, en ook hier dient rekening mee gehouden te worden.

### ***1.4 Betrouwbaarheid***

Het moet aannemelijk gemaakt worden dat er een redelijke kans is dat de gemeten effecten in relatie tot de verontreiniging staan; en niet met andere (natuurlijke en niet-natuurlijke) factoren in het milieu, de zogenaamde ‘confounders’. Met andere woorden, de biologische respons moet meetbaar zijn na blootstelling aan de gecontamineerde grond wanneer deze vergeleken wordt met de resultaten van niet gecontamineerd referentiemateriaal, referentiegegevens (bijvoorbeeld uit de literatuur), of met die van referentielocaties waarbij het effect van ‘confounders’ kan worden geminimaliseerd. Met het TRIADE-spoor ‘chemie’ is dit aspect relatief van ondergeschikt belang, hoewel bij de risicobeoordeling wel rekening gehouden dient te worden met natuurlijke achtergrondgehalten. Bij het TRIADE-spoor ‘ecologie’ is de invloed van ‘confounders’ in potentie zeer groot. Bioassays nemen wat dit betreft de middenpositie in.

### ***1.5 Reproduceerbaarheid***

Bij herhaling moet de methode een vergelijkbare respons geven bij een vergelijkbaar niveau van verontreiniging. De vergelijkbare respons moet in het licht worden gezien van een voor de risicobeoordeling relevante maat. Voor een risicobeoordeling is het dus vaak niet zo belangrijk om de concentratie van een verontreinigende stof met precisie te kennen (door voldoende replica's mee te nemen), omdat de berekende effecten vaak niet erg gevoelig zijn voor (kleine) veranderingen in de concentraties. Aan de andere kant zijn natuurlijke variaties in biologische respons vaak geen groot probleem voor een risicobeoordeling, zolang de doorwerking van deze variatie in de berekening van effecten gering is. Bij een afgemeten budget voor de risicobeoordeling is de eerste prioriteit om te diversificeren in de selectie van testen, zodat er binnen elk TRIADE-spoor voldoende informatie gegenereerd kan worden. Het toepassen van voldoende replica's om de statistische robuustheid te vergroten heeft pas de tweede prioriteit. Bij geen of te weinig replica's kan ervaringsdeskundigheid voor de betreffende test toegepast worden (wat is de ‘normaalrange’ in testresultaten voor de



betreffende methode), zodat toch gebruikt gemaakt kan worden van gegevens over de robuustheid van de methode. Eventueel kan de weging van verschillende testen mede afgestemd worden op de mate van statistische betrouwbaarheid, met andere woorden bij een geringe betrouwbaarheid weegt het resultaat minder mee in de berekening van het geïntegreerde effect.

### **1.6 Kwantificering**

Het is van belang dat de gemeten effecten ‘vertaald’ kunnen worden naar een schaal die voor de risicobeoordeling van belang is. Vooralsnog is gebruik gemaakt van een effectschaal voor de effecten van verontreiniging van 0 (geen significante effecten) tot 1. Bij 1 wordt aangenomen dat het ecosysteem in het geheel niet meer functioneert - het is geen grens voor onacceptabele effecten. Deze schaling impliceert dat bijvoorbeeld de concentratie van een verontreinigde stof, of een risico-index zoals de PEC/NEC, niet rechtstreeks toegepast kan worden in de risicobeoordeling, omdat deze aan de bovenkant nauwelijks begrensd is. Door te schalen van 0 tot 1 (of 0 tot 100%) kan maximaal gebruik worden gemaakt van voor de risicobeoordeling relevante, kwantitatieve informatie (De Zwart et al., 1998).

### **1.7 Resultaten schalen naar ecologische effecten**

Een van de belangrijkste onderdelen van de risicobeoordeling betreft het schalen van de resultaten van een individuele test naar een maat die voor de risicobeoordeling van belang is. Alleen na de schaling kunnen de resultaten geëvalueerd worden en kan een eventuele geïntegreerde risicobeoordeling plaatsvinden. Appels en peren zijn nog relatief eenvoudig te vergelijken (aantallen), maar ethyleenproductie bij een tros bananen pas na omrekening (op basis van literatuurgegevens) van deze productie naar het aantal bananen.

Voor elke methode dient een specifieke functie te worden gebruikt voor deze schaling. In het voorstel loopt de schaal voor effecten van 0 tot 1 (of 100%). Een dergelijke kwantitatieve schaal is ook gebruikelijk bij technieken voor *Multiple Criteria Analysis* (MCA; de zogenaamde *utility function*, Keeney and Raiffa, 1976). Een paar algemene kenmerken van deze schaling voor de verschillende TRIADE-sporen (nader uitgewerkt bij de beschrijving van de testmethoden):

- *Chemie*: Concentraties van verontreinigende stoffen in een milieucompartiment, of in biota, zijn nauwelijks begrensd, en niet meteen relevant voor het ecologische effect. Pas na de vergelijking van concentraties met informatie over toxiciteit (bijvoorbeeld uit de literatuur) kan er een relevante maat voor de geschatte ecologische effecten worden afgeleid. Hiervoor wordt vaak de zogenaamde *Species Sensitivity Distribution* (SSD) gebruikt, een sigmoïdale relatie tussen de logaritme van de concentratie en een cumulatieve fractie van toxiciteitwaarnemingen met een bepaalde drempelwaarde (bijvoorbeeld een NOEC-waarde). Bij het berekenen van de Toxische Druk (zie paragraaf 7.2.1) is dit in meer detail uitgelegd.
- *Toxicologie*: In veel bioassays wordt een relatief eenvoudige respons bepaald, zoals overleving, reproductie, of groei, ten opzichte van dezelfde respons in een controle experiment. Voor de schaling naar een effectmaat volstaat vaak een eenvoudige

proportionele relatie tussen de gemeten respons ten opzichte van de controle en het ecologische effect. Bijvoorbeeld 15% remming ten opzichte van de controle komt overeen met 0,15 op de effectschaal. Er zijn ook ingewikkeldere, niet proportionele relaties mogelijk.

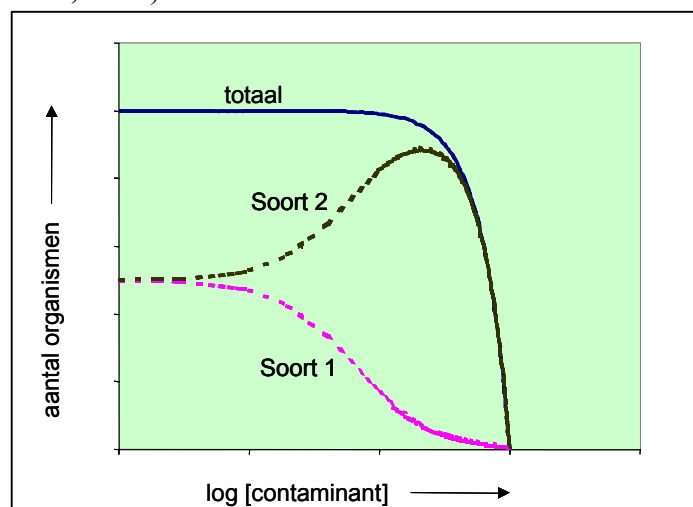
- *Ecologische veldwaarnemingen*: Een algemeen kenmerk van ecologische veldwaarnemingen voor de beoordeling van verontreinigde locaties is dat zowel een grotere als een kleinere respons gemeten kan worden (figuur 1). Een ander algemeen kenmerk is dat er vaak meer dan één respons wordt gemeten, bijvoorbeeld de samenstelling van een levensgemeenschap bestaande uit vele soorten en individuen. Een eenvoudige methode om beide aspecten tegelijk te adresseren werd gebruikt door Schouten en Breure (2001), de zogenaamde BKX (afkorting van Biologische Kwaliteitsindex) vergelijking. Deze is voor toepassing van de TRIADE aangepast tot:

$$\text{BKX}^{\text{TRIADE}} = 1 - 10^{\left( \frac{-\sum |\log X_n|}{n} \right)}$$

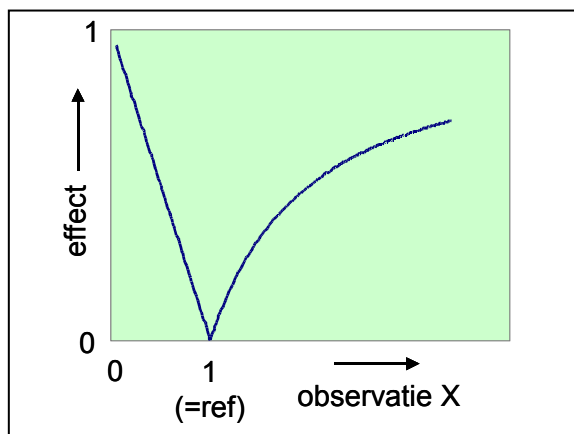
(NB: de referentiewaarneming is op 1 gesteld)

Bij de berekening van de  $\text{BKX}^{\text{Triade}}$  hebben alle waarnemingen een gelijk gewicht in de gesommeerde effectmaat (zie figuur 2). Wanneer er een reden is om een gedifferentieerde weging of een andere projectie van de waarneming op de effectschaal toe te passen, dan zullen andere rekenregels moeten worden gebruikt.

Een steeds meer toegepast rekeninstrument bij ecologische veldwaarnemingen is multivariate analyse. Met bijvoorbeeld een techniek zoals Principale Componenten Analyse (PCA) kan bijvoorbeeld het verschil tussen ecosystemen via een multidimensionale ruimte worden gekwantificeerd. Er zijn meerdere opties om verschillen te kwantificeren; het voert te ver om dit nader uit te werken (Keeney en Raiffa, 1976; OECD, 1984).



*Figuur 1 Respons van een hypothetisch ecosysteem bestaande uit 2 soorten op een verontreinigende stof. Soort 1 is gevoeliger voor de verontreiniging dan soort 2, én soort 2 profiteert van het feit dat soort 1 verdwijnt.*



Figuur 2 Schaling van één ecologische veldwaarneming op de effectschaal volgens de vergelijking van de BKX. De referentiewaarneming is op 1 gesteld.

### 1.8 Wegen van testresultaten

Om tot een geïntegreerde effectmaat te komen per TRIADE-spoor, dienen de verschillende resultaten ten opzichte van elkaar gewogen te worden. Heel vaak worden er ogenschijnlijk geen weegfactoren toegepast, maar dit komt neer op het gelijk wegen van verschillende resultaten. Om de meest geëigende weging toe te passen, dienen de volgende aspecten te worden overwogen:

- *gevoeligheid*: wanneer verschillende testsystemen structureel een ongelijke gevoeligheid hebben kan hiermee rekening worden gehouden. Duidelijk meetbare effecten in notoir *algemene* ongevoelige testsystemen en statistisch significante, maar kleine effecten in gevoelige testsystemen zouden extra gewogen kunnen worden en omgekeerd. Ook kan er een specifieke weging worden toegepast, bijvoorbeeld door het geometrische gemiddelde van  $(1 - \text{effect})$  toe te passen. Na terugtransformatie ontstaat een effectmaat waarbij extra gewicht is toegekend aan die waarnemingen waarmee een sterk effect van de verontreiniging is gescoord. Voor bijvoorbeeld bioassays kan op deze manier rekening worden gehouden met het feit dat bioassays in het algemeen een geringe gevoeligheid voor verontreiniging hebben (De Zwart et al., 1998).
- *ecologische relevantie*: wanneer er een hiërarchie aangegeven kan worden in de ecologische relevantie van de verschillende meet- en rekeninstrumenten, dan kan hiermee via weegfactoren rekening worden gehouden. Het resultaat van een bioassay met als eindpunt ‘overleving’ zou zwaarder gewogen kunnen worden dan het resultaat van een biomarker met als eindpunt een subcellulaire respons.
- *opvolgende aggregatiestappen*: er kan een onbalans ontstaan vanwege het feit dat op een bepaald aggregatieniveau (taxonomische en functionele eenheden) er verschillende aantallen gegevens gegenereerd kunnen worden. Bijvoorbeeld bij ecologische veldwaarnemingen in grasland blijkt dat er vaak meer dan 30 nematodensoorten aanwezig zijn, tegenover ongeveer 5 regenwormsoorten. Bij een gelijke weging komt mogelijk onterecht de nadruk op de nematodengemeenschap te liggen. De overweging is dan om per gemeenschap een geïntegreerde effectmaat af te leiden, of de eventuele onbalans er

via weegfactoren er uit te halen. Hetzelfde geldt ook voor de vele gegevens over microbiologische processen en soorten.

- *specifieke aandachtspunten voor de betreffende risicobeoordeling*: bij elke risicobeoordeling kunnen specifieke vragen gesteld worden die apart of geïntegreerd worden met de rest van de risicobeoordeling. Ook hierbij kunnen weegfactoren ingezet worden.

### **1.9 Aanwijzingen bij de selectie van meet- en rekeninstrumenten**

Vanuit het perspectief van het reduceren van de onzekerheid in de risicobeoordeling is het adagium hoe meer hoe beter. ‘Meer’ slaat dan vooral op de toepassing van zoveel mogelijk verschillende beoordelingsinstrumenten in een ‘testbatterij’, om de conceptuele onzekerheid te reduceren, en niet op het herhaald uitvoeren van dezelfde test, om de onzekerheid als gevolg van (statistische) variatie te reduceren.

Hoewel in principe het resultaat van één test voor een risicobeoordeling relevante informatie bevat, wordt voor de 2<sup>e</sup> onderzoekslaag tenminste een minimale testbatterij voorgesteld, om de meest belangrijke ecologische processen en functionele groepen te adresseren (Fairbrother et al., 2002). Er dienen tenminste drie meet en/of rekeninstrumenten te worden ingezet, die elk een aspect in het bodemecosysteem representeren:

- *primaire productie* (meestal fotosynthese) door planten en sommige bacteriën is de belangrijkste leverancier van koolstof voor heterotrofe groei in een ecosysteem. Vele plantensoorten en algen kunnen als testorganisme gebruikt worden.
- *decompositie* is het proces waarmee de stofkringlopen in het ecosysteem ‘aangezwengeld’ worden. Via decompositie komen nutriënten vrij voor allerlei levensvormen. Bacteriën, schimmels en regenwormen, en in mindere mate ook potwormen zijn direct betrokken bij decompositieprocessen.
- *consumenten* komen overal in het ecosysteem voor en leven met en voor elkaar in het voedselweb. Allerlei trofische interacties tussen voedselwebgroepen kunnen onderscheiden worden. Alomtegenwoordige consumenten zijn bodemarthropoden (mijten en springstaarten), vele nematodensoorten, protozoën, potwormen, en regenwormen, en uiteindelijk insecten, spinnen, pissebedden, duizendpoten en miljoenpoten. Wanneer er meer detail in de risicobeoordeling dient te worden aangebracht kan er verder onderscheid gemaakt worden naar soortgroepen en functies. De uitwerking van bodemgebruik, de nutsfuncties van het bodemecosysteem, regulatie en Life Support Functies (LSF) en de indicatoren hiervoor (bodemchemische, -biologische, en fysische parameters) worden in meer detail beschreven door Mulder et al. (2004); Schouten en Breure (2001); Schouten et al. (2001). Tabel 3 en tabel 4 bevatten een lijst met veel gebruikte meet- en rekeninstrumenten die in een TRIADE kunnen worden toegepast. Een aantal van deze instrumenten is in deze bijlage meer in detail beschreven, specifiek voor toepassing in het raamwerk voor de TRIADE (aangegeven in de tabel). Voor de andere meet- en rekeninstrumenten wordt naar relevante literatuur verwezen. Per test is ook aangegeven tot welke categorie het meet- of rekeninstrument behoort.

## Bijlage 2 Chemie

### 2.1 Toxische Druk

#### Inleiding

De berekening van de toxische druk (TD) werd voorgesteld door Rutgers et al. (2000a). De TD op basis van totaalconcentraties van de verontreinigende stoffen is eenvoudiger en meer algemeen toe te passen dan de berekening van de Potentieel Aangetaste Fractie (PAF). De TD wordt berekend op basis van totaalgehalten in de bodem, de HC<sub>50</sub>-waarden zoals die gepubliceerd zijn in (Swartjes, 1999) of die door (INS, 1999) zijn afgeleid, en een parameter die de spreiding van gevoeligheden kwantificeert. In tegenstelling tot de (te) eenvoudige optelling van HC<sub>50</sub>-overschrijdingen in de SaneringUrgentie Systematiek (SUS) maakt de TD-berekening gebruik van de niet-lineaire relatie tussen concentraties en effect. Daarnaast kunnen betere rekenregels toegepast worden voor het opgetelde effect van meerdere stoffen, de zogenaamde TD<sub>mengsel</sub>.

#### Rekenwijze

Individuele meetgegevens betreffende de aanwezigheid van verontreinigingen worden gebundeld binnen één TRIADE-spoor chemie volgens de rekenregels beschreven door Bakker en Van de Meent (1997), en nader uitgewerkt door Rutgers et al. (2000a, 2001).

#### *Berekening van de concentratie metalen*

De totaalgehalten van metalen in de grondmonsters worden eerst omgerekend naar concentraties in een standaardbodem (10% organische stof en 25% lutum). In de rekenmethode wordt een standaard bodemtypecorrectie toegepast op basis van lutumgehalte en de organische stof in de bodem van de betreffende locatie, conform de aanwijzingen bij de toepassing van streef- en interventiewaarden (zie VROM (1999)).

$C_{\text{metaal st.}}$  is de gemeten concentratie in het veld omgerekend naar standaardbodem.

De formule voor deze omrekening naar standaardbodem met bodemtypecorrectie voor metalen is als volgt:

$$C_{\text{metaal st.}} = C_{\text{metaal}} \cdot \frac{A + B \cdot (25) + C \cdot (10)}{A + B \cdot (\% \text{ lutum}) + C \cdot (\% \text{ org. stof})}$$

Lutum en organische stof worden uitgedrukt in % van de droge stof. A, B en C zijn modifierende factoren die per metaal worden ingevuld volgens tabel 1.

Tabel 1 A, B en C waarden voor verschillende metalen ten behoeve van de bodemtypecorrectie (VROM, 1999)

Stof	HC <sub>50</sub> standaardbodem	A	B	C
Arseen	60	15	0,4	0,4
Barium	625	30	5	0
Beryllium	29	8	0,9	0
Cadmium	12	0,4	0,007	0,021
Chroom	230	50	2	0
Kobalt	240	2	0,28	0
Koper	190	15	0,6	0,6
Kwik	10	0,2	0,0034	0,0017
Lood	490	50	1	1
Nikkel	480	10	1	0
Vanadium	250	12	1,2	0
Zink	720	50	3	1,5

#### Berekening van de concentratie organische verontreiniging

Voor organische stoffen wordt ook een correctie voor de concentratie in een standaardbodem toegepast op basis van de organische stof in de bodem van de betreffende locatie (zie Stoffen en Normen, 1999). Gehaltes gemeten in het veld werden omgerekend naar equivalenten in 'standaardbodem' (10% organische stof). Voor PAK zijn uitzonderingen op dit percentage van 10% organische stof zie VROM (1999).

De concentratie (C) van de organische verontreiniging omgerekend naar standaard bodem N<sub>st</sub> is als volgt:

$$N_{st} = \frac{(C_{gemeten}) \cdot (C_{orgstof})}{10}$$

#### Berekening van de Toxische Druk

De Toxische Druk (TD) wordt eerst per stof berekend, en vervolgens worden rekenregels toegepast voor de totale TD van het mengsel (TD<sub>mengsel</sub>) en vind er een correctie plaats voor TD als gevolg van de (natuurlijke) achtergrond van betrokken stoffen.

De toxische druk volgt uit de formule voor een log-logistische verdelingsfunctie:

$$TD = \frac{1}{1 + e^{\left( \frac{(\log HC_{50} - \log C_{metaal\ st.})}{\beta} \right)}}$$

HC<sub>50</sub> is de bijbehorende risicogrens van dit metaal (mg/kg) in standaardbodem. De coëfficiënt β is de hellingshoek van de raaklijn in het buigpunt van de S-vormige responscurve. De β is metaalspecifiek en afhankelijk van de gebruikte toxiciteittoetsen in de SSD. Wanneer de β niet bekend is kan een *default* worden gebruikt van β = 0,4 (De Zwart, persoonlijke mededeling). In de praktijk blijken de variaties betrekkelijk gering en van betrekkelijk geringe invloed te zijn op de TD. Uit ervaring is gebleken dat een β van 0,4 een goede gemiddelde waarde is.

Vervolgens kan de gecombineerde toxische druk van de gemeten stoffen in het mengsel ( $TD_{\text{mengsel}}$ ) worden berekend samen berekend, met behulp van de rekenregels voor 'effectadditie'. Hierbij wordt aangenomen dat de toxische stoffen, waaraan een organisme is blootgesteld, een verschillend werkingsmechanisme hebben. De optelling wordt als volgt gedaan:

$$TD_{\text{mengsel}} = 1 - ((1 - TD_1) \cdot (1 - TD_2) \cdot \dots \cdot (1 - TD_n))$$

Hierin is  $TD_1$  t/m  $TD_n$  de toxische druk die berekend is voor de  $n$  verschillende stoffen afzonderlijk. Tenslotte wordt gecorrigeerd voor de TD op de lokale referentie. Wanneer aangenomen wordt dat deze locatie slechts achtergrondconcentraties van de stoffen bevat die bij de verontreinigde locaties voorkomen, dan mag het berekende effect hiervan afgetrokken worden van het effect bij de verontreinigde locaties. De resterende toxische druk wordt  $TD_{\text{antropogeen}}$  genoemd. Deze wordt geschaald naar de 'niet-aangetaste fractie' en berekend met behulp van de formule:

$$TD_{\text{antropogeen}} = \frac{TD_{\text{locatie}} - TD_{\text{referentie}}}{1 - TD_{\text{referentie}}}$$

#### *TD<sub>metalen</sub> en TD<sub>organische-stoffen</sub>*

Hierboven is de procedure geschetst om per stof een bodemtypecorrectie toe te passen, per stof de TD te berekenen, en vervolgens de TD voor het hele mengsel te berekenen via eenvoudige rekenregels voor mengseltoxiciteit en deze te corrigeren voor de natuurlijke achtergrond van het mengsel zoals dat gemeten werd in de lokale referentie(s). Bij de locaties die onderzocht werden in het kader van de ontwikkeling van de TRIADE bleek heel vaak dat de bijdrage van de metalen aan de totale TD veel groter was dan de bijdrage van de organische stoffen (Rutgers et al., 2001; Schouten et al., 2003a; Schouten et al., 2003b). Voor het overzicht en de evaluatie is het aan te bevelen om de TD voor metalen en voor organische stoffen apart te berekenen, en pas in het allerlaatste stadium te integreren (in de TRIADE-matrix).

#### *TD<sub>poriewater</sub>*

Wanneer de concentraties van de verontreinigde stoffen in het poriewater bekend zijn, kan de zogenaamde  $TD_{\text{poriewater}}$  worden berekend. Het is dan van belang om relevante toxiciteitgegevens te gebruiken, en deze zijn vaak niet beschikbaar. Als alternatief kan gekozen worden om  $HC_{50}$ -waarden voor oppervlaktewater te gebruiken, er van uitgaande dat poriewater een waterig systeem is vergelijkbaar met oppervlaktewater. De beantwoording van de vraag of  $TD_{\text{poriewater}}$  een betere maat voor effecten is dan  $TD_{\text{totaal-concentraties}}$  ligt buiten de scope van deze richtlijn. De discussies over correcties voor beperkte biobeschikbaarheid zijn nog niet afgerond (Cornelissen en Kamerling, 2003; Sijm et al., 2002).

Tabel 2  $\beta$ waarden voor berekening van de Toxische Druk (uit Struijs et al., 2000).

metaal	$\beta$
Antimoon	0,77
Arseen	0,54
Barium	-
Beryllium	0,59
Cadmium	0,56
Chroom	0,50
Kobalt	-
Koper	0,41
Kwik	0,49
Lood	0,39
Molybdeen	0,52
Nikkel	0,83
Seleen	0,55
Tin	0,66
Vanadium	0,24
Zilver	0,45
Zink	0,38

## 2.2 SSD, PAF, biobeschikbaarheid, bioaccumulatie en doorvergiftiging

‘SSD’ staat voor Species Sensitivity Distribution (Posthuma et al., 2002). Een SSD is de cumulatieve frequentieverdeling van gevoeligheden van (bodem)organismen, zoals wormen, pissebedden, mijten, en planten voor een bepaalde stof. Elk organisme heeft een typerende, soortspecifieke gevoeligheid. Qua gevoeligheid voor toxische stoffen geldt ‘all animals and plants are unequal’. Om grip te krijgen op de risico’s voor het gehele ecosysteem wordt zoveel mogelijk informatie over gevoeligheden gecombineerd in een SSD (figuur 3). Ecologische risicobeoordeling met een SSD bestaat uit drie stappen voor elke afzonderlijke stof, en omvat een vierde stap voor beoordeling van mengsels:

(1) In de literatuur zijn veel gegevens voorhanden over de toxiciteit van stoffen voor bodemorganismen, meestal uitgedrukt in een gevoeligheid. De gevoeligheidsgegevens zijn samengevoegd in grote databestanden.

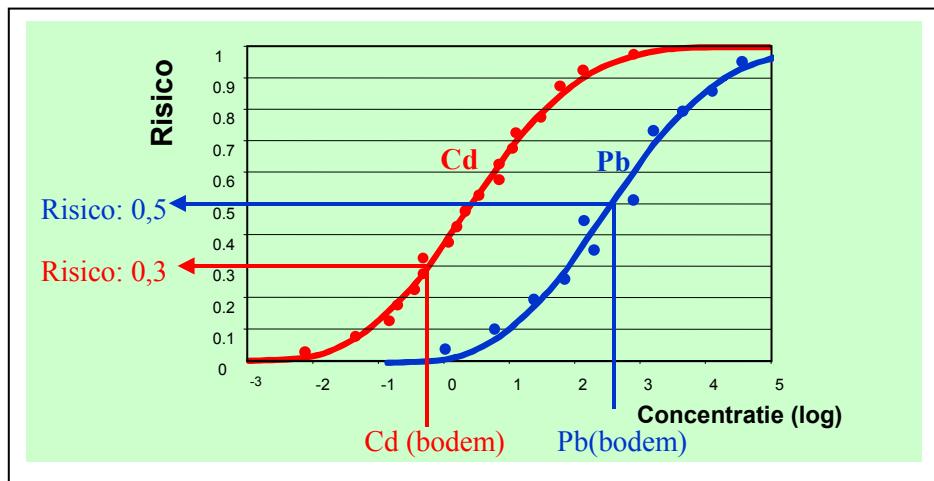
(2) Tegenwoordig wordt vaak aangenomen dat de gevoeligheden log-normaal verdeeld zijn. Voor het beschrijven van het log-normale model zijn standaard spreadsheets bruikbaar. Deze zijn ook flexibel inzetbaar, zie bijvoorbeeld *ETX 2.0* van het RIVM of *OMEGA123* van het Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling (RIZA).

(3) De SSD toont het verband tussen concentratie (X) en risico (Y) voor die stof. Deze maat is de Potentieel Aangetaste Fractie (PAF) en kan beschouwd worden als de ecologische effectmaat. Deze werkwijze is congruent aan de afleiding van bodemnormen. De concentratie waarbij voor 50% van de soorten een effect optreedt (Hazardous Concentration 50% of HC<sub>50</sub>) wordt bijvoorbeeld gebruikt voor de afleiding van de interventiewaarde voor die stof. Bij de huidige beoordelingssystemen wordt, op een paar uitzonderingen voor metalen en organische



stoffen na, geen rekening gehouden met het gezamenlijke risico van meerdere toxische stoffen in een mengsel. Met het SSD-concept kan het mengselrisico wel bepaald worden.

(4) Het bepalen van het risico van het mengsel toxische stoffen. Hiervoor worden de stoffen ingedeeld in stofgroepen, via hun werkingsmechanismen (bijvoorbeeld: narcotiserende stoffen zoals PAK's, insecticiden). Daarna worden de risico's van de stoffen binnen een stofgroep bepaald door relatieve concentratie additie, en tussen stofgroepen door respons additie. Voor deze berekeningen zijn eenvoudige spreadsheets voldoende. Het eindresultaat is een PAF of een meer-stoffen PAF (ms-PAF) als maat voor het (gezamenlijke) ecologische risico van de gemeten stof(fen) op een locatie.



*Figuur 3 Voorbeeld van een SSD voor lood en een SSD voor cadmium.*



## Bijlage 3 Toxicologie: bioassays in de TRIADE

### 3.1 Algemene aandachtspunten bij toepassing van bioassays

Het resultaat van bioassay of biomarker geeft een indicatie van de meetbare toxiciteit in een monster van de locatie. Er kan een aantal basisontwerpen worden onderscheiden, zoals:

- Kortdurende en langdurende bioassays (ook wel acuut, respectievelijk chronisch genoemd). In het algemeen wordt verondersteld dat langdurende bioassays een grotere ecologische relevantie hebben, omdat de blootstelling van verontreiniging in het veld ook een lange tijdschaal betreft.
- Bioassays met het complete (grond)monster of aan extracten of elutriaten van het monster. De ecologische relevantie van bioassays aan het hele monster lijkt groot ten opzichte van testen aan extracten of elutriaten. Het voordeel is inderdaad dat de respons in het 'as is'-monster direct gekoppeld kan worden aan de situatie in het veld. Er zijn ook nadelen. Vaak is het zo dat een experimentele opzet met complete (grond)monsters ingewikkelder is voor wat betreft uitvoering en interpretatie van de resultaten, dan een opzet met extracten of elutriaten. Dat heeft te maken met het feit dat:
  - elk testorganisme eisen stelt aan de omgeving, die af kunnen wijken van de monsters die onderzocht moeten worden. Het moet sterk afgeraden worden om bijvoorbeeld de pH in het grondmonster aan te passen, om aan de eisen van het testorganisme te voldoen, omdat dat het gedrag van de verontreiniging sterk beïnvloedt.
  - het niet mogelijk is om verdunningen of concentraties van het monster te maken, om de dosis-effect-relatie vast te stellen. Hierdoor zijn de mogelijkheden voor kwantificering beperkter dan bij extracten of elutriaten.
  - bij toepassing van het hele monster er meer experimentele ruis verwacht moet worden dan bij toepassing van extracten of elutriaten, vanwege natuurlijke variaties in de te onderzoeken monsters.

Extracten of elutriaten bieden de mogelijkheid om de testcondities enigszins aan te passen aan de eisen van het testorganisme. Het nadeel is dat de condities tijdens de opwerking bepalend zijn voor de fractie van de verontreiniging die 'meekomt' in het extract of elutriaat. Dit wordt overigens ook vaak als een voordeel gezien, omdat het beschouwd zou kunnen worden als de 'biobeschikbare fractie'. Een ander voordeel van extracten of elutriaten is dat de onderzoeksopzet vaak eenvoudiger is, en dat er meer referentiegegevens voor de test beschikbaar zijn via controle-experimenten en literatuur.

- Bioassays in het veld (in situ) of in het laboratorium. Er zijn voor aquatische ecosystemen enkele kooi- en monitorconstructies operationeel om in het veld biomonitoring van verontreinigende stoffen te kunnen uitvoeren. Voor bodemonderzoek zijn deze systemen in de ontwikkelingsfase. Voorlopig zullen ze een beperkte bijdrage kunnen leveren aan de 'gereedschapkast' van de TRIADE.
- Metingen aan het gedrag van het gehele organisme (overleving, reproductie, groei, etc.) of aan delen ervan (biomarkers). Verondersteld wordt dat de ecologische relevantie van de respons op het niveau van populaties of gemeenschappen (overleving, reproductie, groei, etc.) ecologisch relevanter is dan een respons op cellulair niveau (via biomarkers

bepaald). Het voordeel van biomarkers is dat ze vaak specifiek en gevoeliger op bepaalde stoffen en stofgroepen reageren.

- Bioassays met één soort of met meerdere soorten organismen. In het algemeen wordt er één soort testorganisme gebruikt voor een bioassay. Hiermee kunnen alleen directe effecten van verontreinigingen op het gedrag van het organisme worden bestudeerd. De testsystemen zijn relatief eenvoudig. Interacties tussen soorten en indirecte effecten van verontreiniging kunnen niet met deze systemen bestudeerd worden. Eenvoudige systemen voor testen met meerdere soorten zijn nog in ontwikkeling, maar bieden op termijn mogelijkheden voor toepassing. Systemen met meerdere soorten (micro-, meso- en macrocosms) worden wel al veel gebruikt voor het testen van stoffen ('preventieve risicobeoordeling').

Al deze aspecten zijn relevant, maar het gewicht wat aan de positieve en negatieve kanten moet worden toegekend is voor elke risicobeoordeling weer anders. Van groot belang is bijvoorbeeld de onderzoekslaag; bij een eenvoudig onderzoek volstaat een eenvoudig maar robuust instrumentarium met relatief weinig locatiespecifieke detaillering, terwijl een completere onderzoekslaag gevuld zal worden met subtielere meet- en rekeninstrumenten.

Tabel 3 Voorbeelden van meetinstrumenten voor het toxicologische spoor (bioassays en biomarkers) van de TRIADE.

Indicator (instrument)	Groep * (P, D of C)	Literatuur **
Microtox® liquid (elutriaat)	D	Bijlage
Rotoxkit (elutriaat)	C	Snell et al., 1991
Algen toxiciteitstest (elutriaat)	P	OECD, 1984
Daphnia toxiciteitstest (elutriaat)	C	OECD, 2004
Groeireductie van <i>Lemna</i> sp. (elutriaat)	P	OECD, 2002
Microtox® solid phase	D	
PAM-algentoets (elutriaat)	P	Bijlage
<i>Helix aspersa</i> (slakken reproductietest)	C	NF X 31-255-2 Part 2:
<i>Lithobius mutabilis</i> (duizendpoot)	C	Løkke en Van Gestel, 1998
<i>Philonthus cognatus</i>	C	Løkke en Van Gestel, 1998
Pissebed (zoals <i>Porcellio scaber</i> ) subletale toets: overleving, groei en reproductie	C/D	Løkke en Van Gestel, 1998
<i>Oniscus asellus</i> L (pissebed): beweging, gedrag	C/D	Sorensen et al., 1997
<i>Branchydesmus superus</i> (miljoenpoot)	C	Løkke en Van Gestel, 1998
Planten kiem- en groeitesten.	P	Bijlage
Nematoden: overleving en reproductie.	C/D	Kammenga et al., 1996
Potwormen: overleving, groei, reproductie	C/D	Bijlage
Regenwormen: overleving, groei en reproductie	C	Bijlage
<i>Aporrectodea caliginosa</i> subletale toxiciteitstest	C	Løkke en Van Gestel, 1998
Springstaarten: overleving en reproductie	C	Løkke en Van Gestel, 1998
Mijten: overleving, groei, reproductie	C	Løkke en Van Gestel, 1998

\* P = Primaire productie, D = decompositie, C = consumenten

\*\* Er zijn nog meer bioassays buiten de hierboven genoemde. Zie bijvoorbeeld Spurgeon et al. (2002)

### 3.2 Microtox™: bepaling van de remming op de lichtemissie van *Vibrio fischeri*

#### Literatuur

ISO (1996) en Rutgers et al. (2001).

#### Achtergronden

De Microtox® test kit is gebaseerd op het gebruik van een luminescerende bacteriestam (*Vibrio fischeri*; oude naam: *Photobacterium phosphoreum*) om de toxiciteit van monsters uit het milieu in een waterige oplossing te meten. Wanneer deze bacteriën goed groeien produceren ze licht als bijproduct. Remming van de celactiviteit (zoals toxiciteit) resulteert in een afname van de respiratie en een daarmee corresponderende afname in luminescentie. De afname van de luminescentie kan dus gerelateerd worden aan de mate van toxiciteit in het monster.

#### Korte beschrijving van de methode

Deze test wordt uitgevoerd met bodemextracten of poriewater van de te testen grond gemengd met een bacteriecultuur van *Vibrio fischeri*. Bodemextracten worden met een 'zachte' extractie verkregen, zoals extractievloeistof 2mM Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (Rutgers et al., 2001). Er wordt altijd een verdunningsreeks van het monster getest. De standaard verdunningsreeks is 45; 22,5; 11,25 en 6,25 volume %. Het is mogelijk om het zoutgehalte van het monster op een andere manier aan te passen, zodat een verdunningsreeks van 90; 45; 22,5 en 11,25 volume % kan worden getest. Omdat de verdunning in de reeks dan minder groot is, kunnen toxische effecten eerder aangetoond worden. Na een incubatieperiode van 15 of 30 minuten wordt de lichtintensiteit gemeten met behulp van een standaard benchtop lichtmeter die bij de testkit geleverd wordt.

#### Ecologische relevantie

Deze test is in eerste instantie ontwikkeld om watermonsters te testen, en later toegepast op waterige extracten van bodemmonsters (elutriaten).

*Vibrio fischeri* is een mariene bacterie en (eigenlijk komt de bacterie niet in zeewater voor maar in de darm van een pijlinktvis) er wordt verondersteld dat de ecologische relevantie van de test voor zoetwatersediment en terrestrische systemen laag is. Hier valt wel wat op af te dingen. *Vibrio fischeri* is niet veel gevoeliger of ongevoeliger voor bepaalde stoffen dan vele andere bacteriën (ook in de bodem), en de blootstelling aan het milieumonster is vergelijkbaar met vele andere testen. Het heeft daarom weinig zin om investeringen te doen voor de ontwikkeling van een bioassay met een ecologisch relevantere bacterie.

De reden dat *Vibrio fischeri* net zo gevoelig is als andere bacteriën is waarschijnlijk dat de fysiologie en het metabolisme niet sterk afwijken van die van andere veelvoorkomende (bodem)bacteriën. De grote voordelen van deze test zijn de lage kosten, de grote schat aan beschikbare literatuurgegevens, en het feit dat de test vrijwel altijd toepasbaar is. De respons kan daarom beschouwd worden als een algemene indicator voor meetbare toxiciteit voor een brede groep stoffen in milieumonsters, en dat maakt de test uitermate geschikt voor een eerste onderzoekslaag in de TRIADE.

## Gevoeligheid

De test met *Vibrio fischeri* reageert op een groot aantal, dat een directe toxische respons induceren. De gevoeligheid van de Microtox is ongeveer gemiddeld ten opzichte van andere bioassays, en is hoog in vergelijking met een gemiddelde acute bioassay.

## Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid

De test is vrijwel altijd inzetbaar en is robuust, omdat een elutriaat wordt gebruikt. De testkit is te koop en standaardprotocollen zijn beschikbaar. Het resultaat wordt vergeleken met een interne blanco, zodat er altijd een respons gemeten kan worden. Omdat het testorganisme in veelvoud aanwezig is, hebben stochastische gebeurtenissen geen effect op de reproduceerbaarheid. De reproduceerbaarheid is zeer hoog, als de vereiste kwaliteitscontroles worden uitgevoerd.

## Kwantificering en schaling

De mate van reductie van de luminescentie wordt meestal in procenten gegeven. Deze kan proportioneel gerelateerd worden aan de toxiciteit van een monster. De hoeveelheid luminescentie of lichtopbrengst ten opzichte van het referentiemonster of de blanco kan rechtstreeks (proportioneel) gebruikt worden voor de berekening van het effect op een schaal van 0 tot 1. Als bijvoorbeeld de luminescentie in het volledige milieumonster 45% geremd is ten opzichte van de blanco of het referentiemonster, dan is het effect 0,45.

Standaard worden resultaten gegeven in procenten van het monster (>100% betreft een geconcentreerd monster; < 100% betreft een verdund monster) waar 50% of 20% afname van de luminescentie optreedt ten opzichte van interne blanco (EC<sub>50</sub>, respectievelijk EC<sub>20</sub>). Voor de TRIADE is het nodig om de grootte van het effect (percentage remming van de luminescentie) te weten in het onverdunde (complete of 'as is') monster. Het is eenvoudig dit rechtstreeks uit de standaardresultaten te berekenen. Met de hieronder gegeven formule kan de β en de EC<sub>50</sub> berekend worden uit de ruwe gegevens:

$$\text{effect (in \%)} = \frac{100}{1 + e^{\left( \frac{\log(\text{EC}_{50}/100)}{\beta} \right)}}$$

Als de EC<sub>20</sub> en EC<sub>50</sub> (in procenten van het monster) al bekend zijn uit de standaardrapportage van de Microtox software, kan de β kan ook berekend worden met de volgende formule:

$$\beta = \log(\text{EC}_{50} / \text{EC}_{20}) / \ln(4)$$

Het zal vaak voorkomen dat een monster te weinig toxiciteit bevat om een nauwkeurige beschrijving van de dosis-effect-relatie vast te stellen. Wanneer er significante toxiciteit gemeten wordt in het meest geconcentreerde monster (meestal ongeveer 90%; na toevoeging van medium en de bacteriën) kan een uitweg gezocht worden door een vaste waarde voor de β te gebruiken (β = 0,41 ± 0,12; berekend uit 23 waarnemingen). De β is bij de test met *Vibrio fischeri* namelijk tamelijk constant voor verschillende bodemmonsters met mengsels van stoffen. Wanneer dit nog niet tot het gewenste resultaat leidt, volstaat eventueel een eenvoudige lineaire extrapolatie van de resultaten naar het 100% monster, maar in deze gevallen zal het berekende effect maximaal rond 0,15 (op de effectschaal) zijn.

### **3.3 Pulse Amplitude Modulation (PAM) algentoets**

#### **Literatuur**

Van Beusekom et al., 1999 en Rutgers et al., 2001.

#### **Achtergronden**

De PAM-algentoets is een kortdurende screeningstest met de groenalg *Selenastrum capricornutum* in (verdund) bodemextract om de toxiciteit van monsters uit het milieu te meten. De remming van de fotosynthese, onder invloed van toxische stoffen in het bodemextract wordt gemeten bij de groenalg. Hoe toxischer het monster hoe groter de impact op de fotosynthese-efficiëntie. En des te groter de afname van de fotosynthese van deze groenalg is.

#### **Korte beschrijving van de methode**

De test wordt uitgevoerd met bodemextracten van de te testen grond gemengd met een bepaalde hoeveelheid van de algencultuur *Selenastrum capricornutum*. Bodemextracten worden met zachte extractie verkregen of men kan poriewater gebruiken (Rutgers et al., 2001). De alg wordt gedurende 4,5 uur blootgesteld aan het te meten grondextract. Door het meten van het chlorofylgehalte met de fluorometer wordt remming van de fotosynthese bepaald. De mate van remming wordt beïnvloed door toxische stoffen uit het bodemextract en op de wijze worden de effecten van de toxische stoffen gekwantificeerd.

#### **Ecologische relevantie**

De test is in eerste instantie bedacht om watermonsters te testen. Van een representatief bodemmonster van de te testen locatie wordt een extract gemaakt. Een reeks van methoden is beschikbaar om bodemextracten te maken. Deze methoden variëren in bruikbaarheid om de biobeschikbare fractie te extraheren. Daarom moet er rekening gehouden worden met de betrouwbaarheid van de resultaten en de hieruit volgende ecologische relevantie van de test. Toch moet het gebruik van deze screeningstest voor het vergelijken van de relatieve toxiciteit van gecontamineerde grond niet worden ontraden.

#### **Gevoeligheid**

De PAM-algentoets reageert vooral op metalen en mengsels hiervan.

#### **Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid**

De biologische respons is altijd te meten bij deze test. Het resultaat kan vergeleken worden met een interne blanco. De methode is al vaak gebruikt voor het screenen van oppervlaktewater en is enkele malen met bodemextracten uitgevoerd. Uit de oppervlaktewaterstudies blijkt dat de test reproduceerbaar is.

**Kwantificering en schaling**

De mate van reductie van de fotosynthese is evenredig met de toxiciteit van een monster. De PAM-resultaten worden gegeven in procenten effect ten opzichte van de interne blanco van het experiment. De PAM-resultaten worden uitgedrukt in percentage remming van het 100% monster. Het is mogelijk om te schalen, op een schaal van 0 –1 komt 0 overeen met 0% effect en 1 met 100% effect.



### **3.4 Zaadkieming en groeitest**

#### **Literatuur**

OECD, 2003.

#### **Achtergronden**

Het meten van het effect van de verontreinigde bodem op de kieming en ontwikkeling van gewassen. Een plant bezit bepaalde eigenschappen waardoor hij geschikt is voor toxiciteitstesten. Een plant reageert direct op de omgeving en grond waarin ze staat. Het wortelstelsel van planten kan actief en passief mobiele elementen absorberen. Planten zijn essentieel voor de gezondheid van het ecosysteem en zijn tevens economisch van belang.

#### **Korte beschrijving van de methode**

Plantenzaden worden aan grondmonsters blootgesteld onder geconditioneerde omstandigheden. Een groot aantal soorten zaden is geschikt voor deze experimenten. Het kiemingspercentage van de zaden wordt geregistreerd. Bij de keuze van de zaden is het aan te raden om rekening te houden met de bodemeigenschappen van de te testen grond. Op de te testen grond, met bepaalde Water Holding Capacity (WHC) worden zaden gelegd. De zaden worden onder geconditioneerde omstandigheden voor wat betreft relatieve luchtvochtigheid, temperatuur en licht geïncubeerd. Dagelijks wordt het aantal ontkiemde zaden genoteerd en zo wordt het kiemingspercentage en de kiemvertraging in de verschillende gronden bepaald. Het kiemingspercentage van de verontreinigde grond kan vergeleken worden met het kiemingspercentage op de grondmonsters van de referentielocatie. Het experiment kan uitgebreid worden met het laten groeien van de kiemen zodat biomassa, droog- en natgewicht verhoudingen, scheutlengte en eventueel visuele effecten genoteerd kunnen worden. Van de volgende zaden is uit de literatuur bekend dat ze geschikt zijn voor deze bioassay:

*Lolium perenne*, *Oryza sativa*, *Avena sativa*, *Triticum aestivum*, *Sorghum bicolor*, *Brassica alba*, *Brassica napus*, *Raphanus sativus*, *Brassica rapa*, *Brassica campestris var. chinensis*, *Vicia sativa*, *Phaseolus aureus*, *Trifolium pratense*, *Trifolium ornithopodioides*, *Lactuca sativa*, *Lepidium sativum*.

#### **Ecologisch relevantie**

Over het algemeen zijn planten relevant voor het functioneren van het ecosysteem. Het gebruik van representatieve soorten verhoogt de zeggingskracht van de test.

#### **Gevoeligheid**

Planten zijn over het algemeen gevoelig voor bestrijdingsmiddelen.

**Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid**

De biologische respons is altijd zichtbaar bij deze test. Er is een standaardmethode beschreven, zodat de reproduceerbaarheid hoog is. In de standaardtesten wordt niet expliciet het gebruik van bepaalde soorten voorgeschreven. Het gebruik van inheemse plantensoorten bij deze test is aan te raden.

**Kwantificering en schaling**

Het schalen van het kiemingspercentage is mogelijk. Op een schaal van 0 –1 komt 0 over een met 100% kieming (geen effect) en 1 met 0% kieming ten opzichte van de referentiegrond. De methode met multiple endpoints kan gebruikt worden om de effecten van de resultaten van de verschillende metingen tot een getal te komen. Zoals de combinatie van de resultaten van het kiempercentage, nat/droog gewicht en de groei van de plant. Het is mogelijk om te schalen, op een schaal van 0 –1 komt 0 overeen met 0% effect en 1 met 100% effect ten opzichte van de referentie grond.

### **3.5 Potwormen overleving, groei en reproductie test**

#### **Literatuur**

ISO, 2004.

#### **Achtergronden**

Het meten van het effect van de verontreinigde bodem op overleving en reproductie van enchytraeën, zoals *Enchytraeus crypticus* en *Enchytraeus albidus*. Samen met regenwormen vormen de enchytraeën één van de belangrijkste groepen binnen de Oligochaeten families in Europa. Enchytraeën leveren een belangrijke bijdrage aan de decompositie. Ze worden veel gebruikt bij de beoordeling van verontreinigde bodems. Enchytraeën worden vaak ook gevonden in bodems waar regenwormsoorten ontbreken.

#### **Korte beschrijving van de methode**

In het laboratorium worden, één van de hierboven genoemde soorten, gekweekte volwassen enchytraeën onder geconditioneerde omstandigheden gedurende 4 weken blootgesteld aan gecontamineerde grond. Na afloop van de blootstellingperiode worden de geproduceerde juvenielen uit de grond geëxtraheerd en geteld, evenals het aantal overlevenden van de oorspronkelijk ingezette volwassen wormen. Het aantal juvenielen per oorspronkelijk ingezette volwassen worm, per week wordt berekend.

*E. crypticus* heeft een voorkeur voor een bodem pH-range die loopt van 4,0-7,0 deze soort enchytraeë reproduceert bij een pH boven de 3,2 en *E. albidus* reproduceert optimaal bij een bodem pH boven 5,3 (Dirven-Van Breemen et al., 1994).

#### **Ecologische relevantie**

Enchytraeën zijn representatieve bodeminvertebraten die door hun decompositieactiviteiten in direct contact met de bodem leven. Wanneer dit experiment met de te beoordelen bodem uitgevoerd wordt en de juiste enchytraeënsoort gebruikt wordt, dan is deze test zeer relevant voor de beoordeling van verontreinigde bodem.

#### **Gevoeligheid**

Enchytraeën komen voor in veel bodemtypen en ook in hoge aantallen bij een gemiddelde pH. Het is bewezen dat enchytraeën gevoelig zijn voor bestrijdingsmiddelen. Er zijn al resultaten bekend van testen waar enchytraeën in met metalen gecontamineerde grond getest zijn.

#### **Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid**

De test is geaccepteerd als ISO- en OECD-richtlijn en bewezen reproduceerbaar. De biologische respons is altijd zichtbaar bij deze test. Dit doordat de reproductie, het aantal juvenielen, fysiek geteld wordt.

**Kwantificering en schaling**

Het aantal geproduceerde juvenielen na blootstellen van de adulten aan de te beoordelen grond kan omgerekend worden naar een percentage ten opzichte van het aantal geproduceerde juvenielen na blootstellen van de adulten aan de referentie- of blancoground. Het is mogelijk om te schalen, op een schaal van 0 –1 komt 0 overeen met het aantal juvenielen in de blanco- of referentiegrond (dit aantal staat dan voor 100% opbrengst). 1 komt overeen met 0 juvenielen 0% opbrengst effect ten opzichte van de referentiegrond.

### **3.6 Regenwormen overleving, groei en reproductie**

#### **Literatuur**

ISO, 1998a,b en Environment Canada, 2004.

#### **Achtergronden**

Het meten van het effect van de verontreinigde bodem op overleving en reproductie van regenwormen. Samen met enchytraeën vormen de regenwormen één van de belangrijkste groepen binnen de Oligochaetae families in Europa. Doordat ze een belangrijke bijdrage leveren aan de decompositie worden ze veel gebruikt bij de beoordeling van verontreinigde bodems.

#### **Korte omschrijving van de methode**

Metten van de overleving van de regenwormsoort *Eisenia fetida*. Wormen, gekweekt in het laboratorium, worden 14 dagen blootgesteld aan een (verontreinigde) veldgrond, 2 replica's per concentratie en per replica 10 wormen. Na 7 en 14 dagen wordt het aantal overlevende wormen geteld. De test wordt uitgevoerd onder geconditioneerde omstandigheden.

Metten van het effect op reproductie van de regenwormsoort *Eisenia fetida*. 10 volwassen wormen van een bepaalde leeftijd gekweekt in het laboratorium en vervolgens 4 weken blootgesteld aan de te testen (verontreinigde) veldgrond. Er zijn 4 replica's per monsterpunt en er wordt wekelijks gevoerd met koemest. Na de blootstellingsfase worden de cocons geteld, deze kunnen eventueel worden geïncubeerd om de vruchtbaarheid en het aantal juvenielen per cocon te bepalen. Het percentage sterft ten opzichte van een blanco- of referentiegrond wordt berekend evenals het aantal cocons, juvenielen ten opzichte van de referentiegrond of een blancogrand.

#### **Ecologische relevantie**

Regenwormen zijn representatieve bodeminvertebraten die door hun decompositie-activiteiten in direct contact met de bodem leven. Deze test is algemeen geaccepteerd als relevant bij ecologische risicobeoordeling. De biologische respons is altijd zichtbaar bij deze test. Regenwormen, vooral de soorten omschreven in de protocollen, zijn algemeen geaccepteerd als representatieve soorten voor de hogere invertebratengroep. Ook zouden in plaats van *Eisenia* andere soorten wormen gebruikt kunnen worden zoals *Lumbricus rubellus* dit is een bewoner van de diepere bodemlagen.

De hierboven omschreven test kan ook worden uitgevoerd met *Aporrectodea caliginosa* (Løkke en Van Gestel, 1998). Deze worm is algemeen voorkomende soort op grasland en agrarische ecosystemen. Indien de voorkeur uitgaat naar het testen van inheemse soorten regenwormen moeten deze uit het veld verzameld worden. Het is tijdrovend en moeilijk om deze soorten te kweken.

**Gevoeligheid**

De test is al toegepast om een breed scala van verontreinigingen in bodem te beoordelen. Resultaten van deze toepassingen laten de bruikbaarheid van deze testen voor ecologische risicobeoordeling zien.

**Reproduceerbaarheid**

Er is een standaard methode beschreven, zodat de reproduceerbaarheid hoog is. Ook ringtesten wijzen uit dat de reproduceerbaarheid van de test hoog is.

**Kwantificering en schaling**

Het percentage sterfte ten opzichte van een blanco- of referentiegrond wordt berekend. 100% sterfte ten opzichte van blanco of referentie betekent 1 op een schaal van 0-1. En bijvoorbeeld 50% sterfte krijgt een waarde van 0,5 op deze schaal.

Ook kan de methode met multiple endpoints gebruikt worden om de effecten van cocon productie en fertiliteit, het aantal juvenielen en aantal juvenielen per cocon en percentage sterfte te schalen. Het is mogelijk om te schalen. Op een schaal van 0 –1 komt 0 overeen met 0% effect en 1 met 100% effect ten opzichte van de referentiegrond.

## Bijlage 4 Ecologie

Tabel 4 Voorbeelden van meetinstrumenten voor het ecologische spoor van de TRIADE.

Indicator (instrument)	Groep (P, D of C)	Literatuur
Stikstoftransformaties van micro-organismen	D	OECD, 2000a
Koolstoftransformaties van micro-organismen	D	OECD, 2000b
Bait lamina: vraatactiviteit	D	Kruidenier, 2000 en Larink, 1993
Nematodeninventarisatie	C	Bijlage
Vegetatie-inventarisatie (hogere planten, schimmels, korstmossen, mossen)	P	Bijlage
Micro-organismen: aantal en biomassa	D	Bloem, 1995 en Bloem et al., 1995a, b
Micro-organismen: synthesesnelheid	D	Michel en Bloem, 1993
Regenwormeninventarisatie	D, C	Sims en Gerard, 1985 en Schouten et al., 1997
Fauna-inventarisatie (vlinders, vogels, zoogdieren)	P	Markert et al., 2003
Micro-organismen: genetische diversiteit	D	Muyzer et al., 1993
Micro-organismen: metabolische diversiteit (Biolog)	D	Bijlage
Potwormeninventarisatie	D	Didden, 1991 en Schouten et al., 1997
Micro-arthropodeninventarisatie	C	Siepel en Ruiters-Dijkman, 1993; Siepel, 1994 en Schouten et al., 1997
Decompositie (litterbag methode)	D	Eisenbeis et al., 1999
Decompositie (tarwestrootje methode)	D	Kruidenier, 2000
Decompositie (katoenstrookje methode)	D	Chew et al., 2001
PICT micro-organismen	D	Bijlage

Het resultaat van een ecologische waarneming in het TRIADE-spoor ecologie geeft een maat voor de toestand van het ecosysteem in een monster of op een locatie. Ecologische veldwaarnemingen zijn gebaseerd op meetbare aspecten van een bestand of gemodelleerd ecosysteem. Met meetbare aspecten wordt bijvoorbeeld bedoeld:

- de samenstelling en verhoudingen van organismen in levensgemeenschappen, op een gedefinieerd taxonomisch of functioneel niveau, gemeten in het veld, of in het laboratorium na extractie en opwerking van de organismen.
- de snelheid van meetbare processen, zoals fragmentatie van organisch materiaal, respiratie en denitrificatie, in het veld, of na bemonstering in het laboratorium onder gestandaardiseerde condities.
- de gesteldheid van (groepen van) organismen, bijvoorbeeld in de vorm van een biochemische respons (biomarker) of de gevoeligheid voor verontreiniging.
- geïntegreerde parameters als uitkomsten van ecosysteemmodellen, bijvoorbeeld biodiversiteitsindices, voedselstrategieën, indicatoren voor ecosysteemstabiliteit, et cetera.

In tegenstelling tot de TRIADE-sporen chemie en toxicologie, richt het TRIADE-spoor ecologie zich rechtstreeks op de biologische aspecten van een locatie (of monster). Dit stelt geheel andere eisen aan het onderzoek bijvoorbeeld aan bemonsteringstrategie, transport en opslag van materiaal. Vaak zal alleen vers materiaal voor analyse toegepast kunnen worden. Een belangrijk aspect is het referentiemonster of beter referentiemonsters, of eventueel de selectie van referentiegegevens uit de literatuur, omdat elk ecosysteem in feite uniek is. Met andere woorden de toestand van het ecosysteem wordt niet slechts bepaald door verontreiniging, maar door alle omgevingsfactoren.



## **4.1 Aaltjes (*nematoden*)**

### **Literatuur**

Oostenbrink, 1960 en Schouten en Arp, 1991.

### **Achtergronden**

Nematoden zijn kleine wormpjes (0,2 - 2 mm lang) die in hoge aantallen en diversiteit voorkomen in de bovenste lagen van de bodem. Het zijn voornamelijk bacterie-, schimmel- en plantenworteleters. Ze komen in groten getale voor en zijn gemakkelijk uit de bodem te extraheren.

### **Korte beschrijving van de methode**

Het meten van het effect van de verontreinigde bodem op de samenstelling van de nematoden gemeenschap ten opzichte van de referentielocatie. Nematoden worden geëxtraheerd uit een mengmonster van de te beoordelen locatie. Nematoden kunnen uit de bodem worden gehaald door een combinatie van spoel-, zeef- en filtertechnieken. In Nederland wordt de zogenaamde Oostenbrinkmethode als standaard gehanteerd voor vrijlevende soorten (Oostenbrink, 1960; Schouten en Arp, 1991). De monsters kunnen aangeboden worden bij het Bedrijfslaboratorium voor Grond en Gewasonderzoek (Blgg) te Oosterbeek. De aantallen nematoden en de samenstelling van de gemeenschap worden in alle bodemmonsters geanalyseerd. Hieruit zijn verschillende effectmaten af te leiden. De diversiteitsmaat, een functioneel-ecologische maat (de Maturity Index) en het aandeel van een trofische groep (% bacterie-eters) worden gecombineerd.

### **Ecologische relevantie**

Nematoden komen in groten getale voor in de bodem, 100 g grond bezit duizenden nematoden. Aantallen en soortensamenstelling zijn een diversiteitsmaat en een functioneel-ecologische maat voor de nematodensamenstelling van de locatie. Ze geven een beeld van de verschuiving in ecologische processen. Het is bewezen dat veranderingen op nematodengemeenschapsniveau eenduidig aan de verontreiniging te koppelen is. Nematoden komen in iedere grond voor. Het is mogelijk om deze methode overal toe te passen. De resultaten hebben nog meer waarde wanneer deze vergeleken kunnen worden met een referentiegrond.

### **Gevoeligheid**

De Maturity Index (MI) is gebaseerd op een ecologische indeling van levensstrategieën (Bongers en Ferris, 1999). In feite komen hier kolonisatie- en successiemechanismen in tot uiting. De veranderingen van de MI van de nematodengemeenschap is na verstoring meetbaar. Vergelijkbare, met behulp van MI, meetbare processen zoals verstoringen door bemesting en verontreinigingen zijn bewezen.

Met de toepassing van een dergelijke index wordt het zicht op de onderliggende informatie beperkt, wat tot een (ongewenst) verlies van gevoeligheid kan leiden. De gevoeligheid van de bepaling op basis van de MI kan in sommige gevallen verhoogd worden door een andere index te gebruiken, of met behulp van multivariate technieken.

### Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid

Bij deze methode kunnen verschillen in verontreinigde grond aangetoond worden. Er is een kans dat de gemeten effecten niet in relatie tot de verontreiniging staan, maar met andere (natuurlijke en niet-natuurlijke) factoren in het milieu, de zogenaamde ‘confounders’. Met andere woorden, de biologische respons moet vergeleken worden met de resultaten van niet gecontamineerd referentiemateriaal, referentiegegevens (bijvoorbeeld uit de literatuur), of met die van referentielocaties waarbij het effect van confounders kan worden geminimaliseerd. Een aantal studies naar het effect van landgebruik en chemische effecten op de nematoden samenstelling gaven een consistente reductie van de MI. Het is aannemelijk dat bij herhaling de methode een vergelijkbare respons geeft bij een vergelijkbaar niveau van verontreiniging in een zelfde type grond (Korthals, 1997).

### Kwantificering en schaling

Het is van belang dat de gemeten effecten ‘vertaald’ kunnen worden naar een schaal die voor de risicobeoordeling van belang is. Vooral is bepaald dat de effectschaal voor een verontreinigingssituatie loopt van 0 (geen significante effecten) tot 1. Bij 1 wordt aangenomen dat het ecosysteem niet meer functioneert, het is geen grens voor onacceptabele effecten. Het aantal gevonden soorten en de MI geven als het ware een gemiddelde voor (verschillende) effecten op de nematodengemeenschap. Het effect op ‘het aantal soorten’ wordt eenvoudig uitgedrukt als % van de referentie. Zowel positieve als negatieve afwijkingen van de referentie worden als effect aangemerkt, door de absolute waarde van het verschil te nemen. De indeling in trofische groepen wordt gedaan volgens de methode van Yeates (1993). De Maturity Index (MI) is gebaseerd op een ecologische indeling van levensstrategieën (Bongers en Ferris, 1999). In feite komen hier kolonisatie- en successiemechanismen in tot uiting. De MI wordt berekend na een indeling van het nematodenmonster in 5 ‘colonizer-persister klassen’. Het procentuele aandeel van de klassen wordt vermenigvuldigd met de zgn. cp-waarde en opgeteld tot de MI (Bongers, 1990; Bongers en Bongers, 1998).

De schaling van de MI vergt uitgebreide bewerkingen, omdat aangenomen wordt dat de theoretische schaal voor de MI van 1 tot en met 5 loopt, en het referentiepunt afhangt van de lokale referentie:

$$(MI_{ref.} - MI_{monst.}) \times (MI_{ref.} - MI_{max.})^{-1}$$

$MI_{max} = 1$	als	$MI_{monst} < MI_{ref}$
$MI_{max} = 5$	als	$MI_{monst} > MI_{ref}$

Het effect op het aandeel bacterie-eters (Bf in %) wordt berekend door ook uit te gaan van het maximale verschil in de richting van de afwijking:

als	$Bf_{monst} > Bf_{ref}$	dan	$(Bf_{monst} - Bf_{ref}) \times (100 - Bf_{ref})^{-1}$
als	$Bf_{monst} < Bf_{ref}$	dan	$(Bf_{monst} - Bf_{ref}) \times (0 - Bf_{ref})^{-1}$

## ***4.2 Community-level physiological profiling met behulp van BIOLOG platen***

### **Literatuur**

Rutgers en Breure, 1999 en Van Elsas en Rutgers, 2005.

### **Achtergronden**

Een Community Level Physiological Profile (CLPP) is als het ware een kwantitatieve vingerafdruk van de afbraakroutes die voorkomen in het kweekbare deel van een bacteriegemeenschap. Bij deze methode wordt gemeten aan bacterie-extracten uit de te beoordelen grond. Net zoals bij de andere methoden uit het ecologische TRIADE-spoor, worden hoge eisen gesteld aan de referentiemonsters, omdat bacteriegemeenschappen zeer gevoelig reageren op elke verandering in hun omgeving.

### **Korte beschrijving van de methode**

De CLPP wordt bepaald met behulp van Biolog-multiwell platen (ECO) met daarin 31 verschillende substraten die als voedingsbron kunnen dienen en 1 blanco. Indien een substraat wordt afgebroken wordt dit zichtbaar in een kleurreactie. De snelheid en intensiteit van deze verkleuring wordt gemeten met een colorimeter, gekoppeld aan een computer die de resultaten opslaat. De platen worden automatisch ingevoerd met behulp van een robotarm. Het verloop van de kleurreactie wordt gedurende 168 uur automatisch gevolgd. De resultaten kunnen worden omgerekend naar afbraaksnelheden voor verschillende substraten of sommaten voor de hele bacteriegemeenschap. Wanneer de afbraaksnelheid van ieder substraat als een unieke variabele (vergelijkbaar met informatie op het niveau van soorten) wordt beschouwd kan met behulp van multivariate analyse de verschillen tussen bacteriegemeenschappen worden berekend en zichtbaar gemaakt. De methodiek voor CLPP-metingen is beschreven door Breure en Rutgers (1999). De waarde van deze metingen zit hem in het feit dat de experimenten met de inheemse microbiële fauna wordt uitgevoerd. Hoewel de methode met een geëxtraheerde gemeenschap plaats vindt, is ze toepasbaar op iedere locatie.

### **Ecologische relevantie**

De methode is gebaseerd op multi-eindpuntbepaling en levert daarmee multivariate informatie over de microbiële gemeenschap. Het aantal variabelen is vergelijkbaar met andere multi-eindpuntbepalingen, zoals het tellen van soorten met behulp van DNA technieken, of een vetzuuranalyse, maar beperkt als in beschouwing wordt genomen dat een microbiële levensgemeenschap vaak uit meer dan 10000 soorten bestaat. In feite wordt de diversiteit van potentiële afbraakroutes bepaald onder artificiële omstandigheden. Uit veldstudies is gebleken dat de CLPP in kwalitatieve zin gerelateerd kan worden aan zichtbaar ecosysteem(dis)functioneren. Met andere woorden, het profiel van de metabole afbraakroutes lijkt dus representatief voor het functioneren van het ecosysteem.

### **Gevoeligheid**

De gevoeligheid van deze meting is in theorie zeer hoog, omdat de bacteriegemeenschap bij bodemverontreiniging vaak direct wordt blootgesteld, weinig mobiel is, en zeer veel soorten bevat. Met andere woorden, er zullen altijd bacteriën en schimmels direct en indirect beïnvloed worden door de bodemverontreiniging. De opzet van de experimenten (aantal replica's in combinatie met een effectieve eliminatie van confounding factoren) bepaalt in hoge mate de gevoeligheid.

### **Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid**

Een groot voordeel van de methode is het gebruik van commercieel verkrijgbare multiwell platen met substraten (Biolog). Deze platen worden routinematig in de Verenigde Staten geproduceerd, en voldoen aan standaard kwaliteitseisen, bijvoorbeeld een constante kwaliteit. Voor het uitvoeren van de experimenten met Biolog platen om een CLPP te maken bestaan diverse protocollen (Van Elsas en Rutgers, 2005), en er zijn nog weinig laboratoria die deze experimenten kunnen uitvoeren.

### **Kwantificering en schaling**

Verschillen ten opzichte van de referentie kunnen aangetoond worden met behulp van een multivariate analyse, bijvoorbeeld een Principal Component Analyse (PCA). Met behulp van een Euclidische afstandmaat, kunnen verschillen tussen CLPP gekwantificeerd worden, en geschaald worden naar een effect van 0 tot 1. Voor 0 kunnen daarvoor de referentielocaties of referentiemonsters gebruikt worden. Voor 1 dient er een theoretische CLPP te worden gedefinieerd, bijvoorbeeld een CLPP uitsluitend bestaande uit nullen. Er zijn nog andere opties voor schalen mogelijk.

### 4.3 Pollution Induced Community Tolerance met behulp van BIOLOG

#### Literatuur

Rutgers et al., 1998b en Van Beelen et al., 2004.

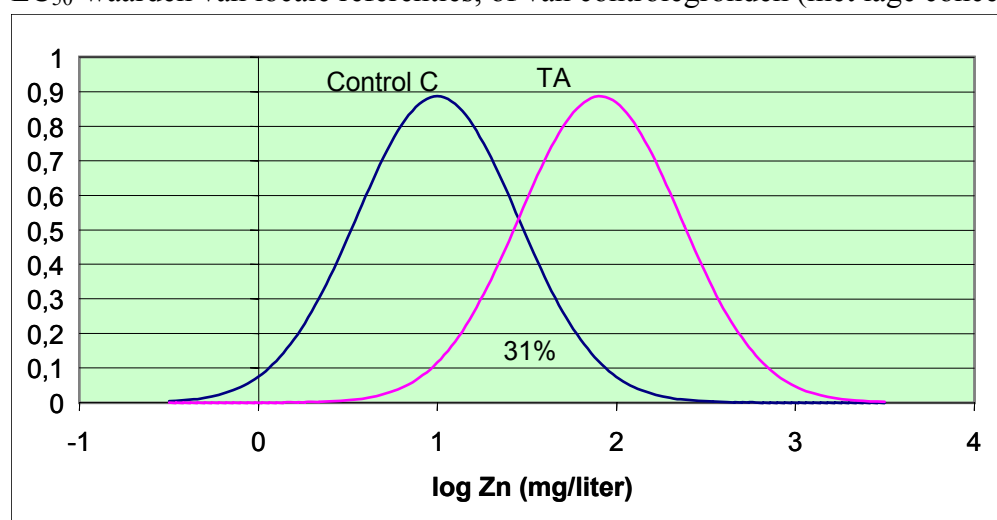
#### Achtergronden

Pollution Induced Community Tolerance (PICT) is de door de verontreiniging geïnduceerde tolerantie van een levensgemeenschap. Het is een methode om veranderingen bij levensgemeenschappen door verontreinigingen vast te stellen, waarbij de causaliteit verhoogd is doordat gebruik wordt gemaakt van de aanname dat levensgemeenschappen zich aanpassen aan de omgeving, inclusief de verontreiniging.

Bij deze methode wordt gemeten aan een bacterie-extract uit de te beoordelen grond en de bijbehorende referentie. De waarde van deze metingen zit hem in het feit dat de experimenten met de inheemse microbiële fauna wordt uitgevoerd. De methode vindt plaats met een geëxtraheerde gemeenschap en is toepasbaar op iedere locatie.

#### Korte beschrijving van de methode

Bij de PICT methode worden organismen uit het veld onder gecontroleerde omstandigheden in het laboratorium blootgesteld aan verschillende concentraties van een verontreinigende stof. De organismen die in het veld al gewend zijn om met deze stof om te gaan zullen ook in het laboratorium een grotere tolerantie voor die stof vertonen. De PICT-methode is hierop gebaseerd. De activiteit van de bacteriën wordt gemeten zoals bij de CLPP-methode hierboven omschreven Biolog<sup>®</sup>-microtiterplaten. Deze microtiterplaten bestaan uit 96 putjes met in 31 verschillende voedingsstoffen. De activiteit van de bacteriën leidt tot de omzetting van een kleurloze indicator in een paars gekleurde stof. Het uiteindelijke resultaat, is een tolerantie maat uitgedrukt als (toegenomen) EC<sub>50</sub>-waarde. Deze wordt vergeleken met de EC<sub>50</sub>-waarden van lokale referenties, of van controlegronden (met lage concentraties).



Figuur 4 Berekening van de tolerantietoename uit de gevoeligheidsverdelingen voor zink, van bodembacteriën van een verontreinigde grond TA en controle grond C.

**Ecologische relevantie**

Er wordt gemeten aan de gevoeligheid van functionele eigenschappen van een beperkt deel van de bacteriegemeenschap. Uit diverse gecontroleerde veldstudies is gebleken dat tolerantieverschuivingen gepaard gaan met andere verschuivingen in levensgemeenschappen binnen het bodemecosysteem. Hiermee is aangetoond dat de ontwikkeling van tolerantie gepaard gaat met schade aan het ecosysteem, volgens het concept 'de kosten van tolerantieontwikkeling'.

**Gevoeligheid**

Het PICT-instrumentarium in het ecologische deel van de TRIADE is bijzonder, omdat het een van de algemene problemen van het ecologische spoor van de TRIADE ondervangt, namelijk het effect van confounding factoren. Met andere woorden, wanneer een goede referentielocatie ontbreekt, kan met behulp van PICT toch het ecologische effect van de verontreiniging worden aangetoond. Dit is vooral een uitkomst bij sterk verstoorde locaties, of bij relatieve korte verontreinigingsgradiënten. Overigens is de meting van PICT slechts uitvoerbaar met redelijk oplosbare toxicanten, waarmee de giftigheid via de blootstelling in de waterfase voorspeld kan worden (metalen, polaire organische stoffen).

**Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid**

Bepaling van PICT is nog niet gestandaardiseerd. Er zijn weinig laboratoria die een betrouwbare PICT-meting kunnen uitvoeren.

**Kwantificering en schaling**

Het uiteindelijke resultaat is een tolerantiemaat uitgedrukt als (toegenomen)  $EC_{50}$ -waarde. Deze waarde wordt vergeleken met de  $EC_{50}$ -waarden van lokale referenties, of van controlegronden (met lage concentraties).

#### **4.4 Floristische inventarisaties (hogere planten, schimmels, korstmossen en mossen): kwalitatieve beoordeling**

##### **Literatuur**

Van der Meijden et al., 1989; Aptroot en Van Herk, 1994; Van der Meijden, 1996; Van Dort et al., 1998; Mulder en Breure, 2003 en Mulder et al., 2005.

##### **Achtergronden**

Floristische inventarisaties zijn relatief gemakkelijk te maken en kunnen gebruikt worden voor een *kwalitatieve* (en onder bepaalde omstandigheden zelfs *kwantitatieve*) beoordeling.

##### **Korte beschrijving van de methode**

In het veld worden de voorkomende plantensoorten geïnventariseerd op de percelen waar de bodemonsters zijn verzameld. De samenstelling van voorkomende planten geeft een beeld van de bodemgesteldheid ter plekke. Het verschaft informatie over verstoring, voedselbeschikbaarheid, grondwaterstand en dergelijke. Naast de zaadplanten en varens (vaatcryptogamen, Van der Meijden, 1996) kunnen tevens de volgende groepen geïnventariseerd worden: korstmossen (Aptroot en Van Herk, 1994), mycorrhizaschimmels (door microscopische benadering) en bladmossen (Van Dort et al., 1998). De floristische inventarisatie moet bij voorkeur op meerdere tijdstippen plaats vinden, omdat een aantal soorten niet het hele jaar door op de locatie aanwezig is (bijvoorbeeld paddestoelen of kruiden).

##### **Ecologische relevantie**

Het moet aannemelijk te maken zijn dat het meet- of rekeninstrument data genereert die een ecologische betekenis hebben, via algemene ecologische eisen die aan elk ecosysteem gesteld kunnen worden, of via specifieke ecologische eisen die voortvloeien uit het bodemgebruik (bijvoorbeeld het voorkomen van doelsoorten). In principe komen meerdere kenmerken in aanmerking op het niveau van levensgemeenschappen, bijvoorbeeld via cascade effecten op de bestuivers (dagvlinders, nachtvinders, Hymenoptera enz.). De relevantie van primaire en secundaire effecten van verontreiniging op levensgemeenschappen is voor planten en plant-dier-interacties (Mulder et al., 2005; Mulder en Breure, 2003) veel eenvoudiger aan te geven dan een effect op het niveau van bijvoorbeeld een cel of celorganel dat via een biomarker kan worden aangetoond.

### **Gevoeligheid**

De floristische inventarisatie heeft een redelijke gevoeligheid. Hoewel niet altijd alle floristische informatie op zinvolle wijze met andere ‘tools’ gecombineerd kan worden.

### **Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid**

Er moet rekening gehouden worden met het bezwaar dat floristische inventarisaties zo verschillend van kwaliteit zijn dat het beeld niet nauwkeurig genoeg kan zijn om gebruikt te worden voor een kwaliteitsoordeel.

### **Kwantificering en schaling**

Het is van belang dat de gemeten effecten ‘vertaald’ kunnen worden naar een schaal, die voor de risicobeoordeling van belang is. Vooralsnog is bepaald dat de effectschaal voor een verontreinigingssituatie loopt van 0 (geen significante effecten) tot 1. Door het toevoegen van kwaliteitsklassen aan ecotoopgroepkaarten (Van der Meijden et al., 1989) kan inzicht worden verkregen in de mate van ontwikkeling van de flora van een verontreinigd gebied. Bij 1 wordt aangenomen dat het ecosysteem niet meer functioneert, het is geen grens voor onacceptabele effecten. Deze waarde is bij planten niet haalbaar, omdat onder welke omstandigheid dan ook altijd tenminste een soort aanwezig zal zijn. Sterker, de aanwezigheid van een plantensoort zegt niets over die kwaliteit ter plaatse, of het om één enkele plant gaat, of om honderden, maak het voor een basisinventarisatie geen verschil (Van der Meijden et al., 1989). Er kan wel een schatting gegeven kan worden van de range waarin een mate van verstoring (lees, afwezigheid van bepaalde soorten die wel in het gebied en in het ecotoop verwacht worden) ligt, afhankelijk van de aangetroffen soorten op het tijdstip van monsternamen. De inschatting van het effect kan dus gemaakt worden op basis van expert judgement, maar kan ook verfijnd worden via een vegetatie opname. Deze beoordeling is hoofdzakelijk in vergelijkende zin te gebruiken (zie 7.4.5).



#### ***4.5 Vegetatie inventarisaties (hogere planten, schimmels, korstmossen en mossen): kwantitatieve beoordeling***

##### **Literatuur**

Braun-Blanquet, 1951; Margadant en During, 1981; Ellenberg et al., 1992; Schamiée et al., 1996; Mulder and Janssen, 1999 en Schouten et al., 2003b.

##### **Achtergronden**

De vegetatie-inventarisaties kan gedaan worden volgens het zogenaamde Zürich-Montpellier systeem (Braun-Blanquet, 1951). Het geeft een beeld van de vegetatiesamenstelling over een langere termijn. Deze vorm van inventarisatie van planten is voor het eerst beschreven door Braun-Blanquet. Het voordeel van deze methode is het *kwantitatieve* aspect, in tegenstelling tot een simpele lijst van aangetroffen soorten (de Flora, zie 4.4).

##### **Korte beschrijving van de methode**

In het veld werden de voorkomende plantensoorten geïnventariseerd op percelen waar de bodemonsters zijn verzameld. Naast de zaadplanten en varens (vaatcryptogamen) kunnen tevens de volgende groepen worden geïnventariseerd: korstmossen, levermossen en bladmossen (Margadant en During, 1981). Net als voor de floristische inventarisatie, moet een vegetatieopname bij voorkeur op meerdere tijdstippen plaats vinden, omdat een aantal soorten niet het hele jaar door op de locatie aanwezig is. Het voorkomen van plantensoorten wordt op het oog in twee getallen (categorieën) vastgelegd. De dichtheid van een bepaalde soort wordt als ‘*Abundanz*’ geschat. Dit loopt van ‘nauwelijks aanwezig’, tot zeer frequent voorkomen (Braun-Blanquet, 1951). De mate van bedekking van de begroeiing (‘*Dominanz*’) wordt ook geschat. De informatie over dichtheid en bedekking wordt gecombineerd in een schaal van zeldzaam (*r*) tot en met 5 (+, 1, 2, 3, 4, 5). Een tweede getal kenmerkt de mate van samengroei van planten van dezelfde soort (‘*Soziabilität*’). Dit is ook een schaal van vijf eenheden (Braun-Blanquet, 1951). Bijvoorbeeld, een soort die in een perceel met +.3 aangegeven wordt, is een soort die gekenmerkt wordt door veel dicht bij elkaar groeiende planten met lage bedekking.

##### **Ecologische relevantie**

Vegetatie-inventarisaties zijn, in tegenstelling tot floristische basisinventarisatie, geen grove methoden. De relevantie van een effect van verontreiniging op levensgemeenschappen is eenvoudig aan te geven en gedetailleerde conclusies mogen uit zulke gegevens getrokken worden (Mulder en Janssen, 1999; Schamiée et al., 1996). Wél zijn vaak veranderingen op gemeenschapsniveau niet eenduidig aan de verontreiniging te koppelen en zijn er soms ingewikkelde referenties voor nodig (Schouten et al., 2003b).

### **Gevoeligheid**

Het moet aannemelijk gemaakt worden dat het instrument een redelijke gevoeligheid heeft, om toe te passen bij de locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling. Voor eenvoudige beoordelingen met relatief hoge concentraties verontreinigende stoffen volstaat vaak een relatief eenvoudig te implementeren instrumentarium. Wél moet er rekening gehouden worden dat de biologische kwaliteit van een bepaalde vegetatie niet steeds recht evenredig aan het aantal erin voorkomende soorten is (Mulder en Janssen, 1999; Schouten et al., 2003b).

### **Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid**

Zoals bij floristische studies, moet er rekening gehouden worden met het bezwaar dat vegetatie inventarisaties zo verschillend van kwaliteit zijn dat het beeld niet nauwkeurig genoeg kan zijn om gebruikt te worden voor een kwaliteitsoordeel. Bij het interpreteren en vergelijken van gegevens van meerdere mensen dient men daarom zeer voorzichtig te zijn. Vooral moet rekening worden gehouden met vertekeningen in de bedekking van de begroeiing '*Dominanz*' en samengroei '*Soziabilität*' die het trendmatige beeld kunnen beïnvloeden, bijvoorbeeld langs een transect of gradiënt bij percelen van verschillende oppervlaktes

### **Kwantificering en schaling**

De samenstelling van de vegetatie geeft een beeld van de bodemgesteldheid ter plekke. Deze verschaft informatie over verstoring, voedsel beschikbaarheid, grondwaterstand en dergelijke. De opnames kunnen in vergelijkende zin gebruikt worden binnen een locatie, maar ook in vergelijking met standaard beschrijvingen van een goede referentie (Ellenberg et al., 1992; Schamiée et al., 1996).

## Literatuur

- Aptroot, A., K. Van Herk. 1994. Veldgids korstmossen: KNNV Veldgids 7. Utrecht, KNNV.
- Bakker, J.D., D. Van de Meent. 1997. Receptuur voor de berekening van de Indicator Effecten Toxische Stoffen (Itox). RIVM rapport 607504003.
- Bloem, J. 1995. Fluorescent staining of microbes for total direct counts, Pages 1-12 in A.D.L. Akkermans, J.D. Van Elsas, F.J. De Bruijn, eds. Molecular Microbial Ecology Manual. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
- Bloem, J., P.R. Bolhuis, M.R. Veninga, J. Wieringa. 1995a. Microscopic methods for counting bacteria and fungi in soil, Pages 162-173 in K. Alef, P. Nannipieri, eds. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. London, Academic Press.
- Bloem, J., M. Veninga, J. Sheperd. 1995b. Fully automatic determination of soil bacterium numbers, cell volumes and frequencies of dividing cells by confocal laser scanning microscopy and image analysis. Applied and Environmental Microbiology 61:926-936.
- Bongers, T. 1990. The Maturity Index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. Oecologia 83 14-19.
- Bongers, T., M. Bongers. 1998. Functional diversity of nematodes. Applied Soil Ecology 10:239-251.
- Bongers, T., H. Ferris. 1999. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. Trends in Evolution and Ecology 14 224-228.
- Braun-Blanquet, J. 1951. Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetationskunde. Wien, Springer Verlag.
- Breure, A.M., M. Rutgers. 1999. Vaststellen van veldeffecten van milieustressoren. RIVM rapport 607601006.
- CCME. 1997. A framework for ecological risk assessment: Technical Appendices. The National Contaminated Sites Remediation Program. Winnipeg, Manitoba. Canada.
- Chapman, P.M. 1996. Presentation and interpretation of Sediment Quality Triad data. Ecotoxicology 5:327-339.
- Check, W.L. 1996. Ecological risk Assessment Methodologies. The third national workshop on the health, riskassessment of contaminated sites, Pages 365-384, South Australian Health Commission.
- Chew, I., J.P. Obbard, R.R. Stanforth. 2001. Microbial cellulose decomposition in soils from a rifle range contaminated with heavy metals. Environmental Pollution 111:367-375.
- Cornelissen, G., G.E. Kamerling. 2003. Ecotoxicologische risico's en water-bodem normen: Wat anders. Deel 1: een systeemanalyse resulterend in een nieuw beoordelingssysteem voor oppervlaktewater, waterbodems en baggerspecie, Deel 2: meting van vrij opgeloste gehalten organische verbindingen en zware metalen. Lelystad, AKWA.
- De Zwart, D., M. Rutgers, J. Notenboom. 1998. Bepaling van het locatiespecifieke ecologische risico van bodemverontreiniging: een opzet voor een beoordelingssystematiek. RIVM rapport 711701011.
- Den Besten, P.J., C.A. Smidt, M. Ohm, M.M. Ruijs, J.W. Van Berghem, C. Van de Guchte. 1995. Sediment quality assessment in the delta of the rivers Rhine and Meuse based on field observations, bioassays and food chain implications. Journal of Aquatic Ecosystem Health 4:256-270.
- Didden, W.A.M. 1991. Population ecology and functioning of Enchytraeidae in some arable farming systems, Agricultural University Wageningen.
- Dirven-Van Breemen, E.M., R. Baerselman, J. Notenboom. 1994. Onderzoek naar de geschiktheid van de potwormsoorten *Enchytraeus albidus* en *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta, Annelida) in bodemecotoxicologisch onderzoek. RIVM rapport 719102025.
- Eisenbeis, G., R. Lenz, T. Heiber. 1999. Organic Residue Decomposition: The Minicontainer-System A Multifunctional Tool in Decomposition Studies. Environmental Science and Pollution Research 6:220-224.
- Ellenberg, H., W. Weber, R. Düll, V. Wirth, W. Werner, D. Paulißen. 1992. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa: Scripta Geobotanica 18. Göttingen, Goltze.
- Environment Canada. 2004. Biological Test Method: Tests for Toxicity of Contaminated Soil to Earthworms (*Eisenia andrei*, *Eisenia fetida*, or *Lumbricus terrestris*), Environmental

- Protection Series. Ottawa, Ontario, Canada, Method Development and Applications Section. Environmental Technology Centre.
- Fairbrother, A., P.W. Glazebrook, N.M. Van Straalen, J.V. Tarazona. 2002. Test methods to determine hazards of sparingly soluble metal compounds in soils. Pensacola, FL, USA, Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC).
- Gaudet, C.L. 1994. A framework for ecological risk assessment at contaminated sites in Canada: review and recommendations. Ottawa (Ontario), Canada, Environment Canada.
- INS. 1999. Integrale Normstelling Stoffen, Milieukwaliteitsnormen bodem, water en lucht. Den Haag, Interdepartementale Stuurgroep INS (Ministeries van VROM, V&W, LNV en EZ).
- ISO. 1996. ISO 11348-3. Water quality: determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). Part 3: method using freeze-dried bacteria. Geneva, ISO.
- ISO. 1998a. ISO 11268-2. Soil quality- effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*), Part 2 Determination of effects on reproduction. Geneva, ISO.
- ISO. 1998b. ISO 11268-3. Soil quality- effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*), Part 3 Determination of effects in field situation. Geneva, ISO.
- ISO. 2004. 16387 Soil quality Effects of pollutants on Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.) Determination of effects on reproduction and survival.
- Kammenga, J.E., P.H.G. Van Koert, J.A.G. Riksen, G.W. Korthals, J. Bakker. 1996. A Toxicity test in artificial soil based on the life-history strategy of the nematode *Plectus acuminatus*. Environmental Toxicology and Chemistry 15:722-727.
- Keeney, R.L., H. Raiffa. 1976. Decisions with multiple objectives: performances and value trade-offs. New York, Wiley.
- Koolenbrander, J.G.M. 1995. Urgentie van bodemsanering; de handleiding. Den Haag, SDU.
- Korthals, G.W. 1997. Pollutant induced changes in terrestrial nematode communities, Landbouw Universiteit Wageningen.
- Kruidenier, M. 2000. Contribution of Earthworms, Collembola and mites to wheat straw decomposition, cotton strip degradation and bait-lamina feeding activity. Amsterdam, Animal Ecology, VU.
- Lamé, F.P.J., R. Bosman. 1993. Protocol voor nader onderzoek, deel 1. Den Haag, SDU.
- Larink, O. 1993. Baitlamina as a tool for testing feeding activity of animals in contaminated soils, Pages 339-345 in M.H. Donker, H. Eijsackers, F. Heimbach, eds. Ecotoxicology of soil organisms. Boca Raton, Lewis Publishers.
- Løkke, H., C.A.M. Van Gestel. 1998. Handbook of Soil Invertebrate Toxicity Tests. Chichester, John Wiley and Sons Ltd.
- Margadant, W.D., H.J. During. 1981. Beknopte flora van de Nederlandse blad- en levermossen. Wetensch. Meded. Kon. Ned. Natuurhist. Ver. 28:1-517.
- Markert, B.A., A.M. Breure, H.G. Zechmeister. 2003. Bioindicators and biomonitors, principles, concepts and applications, Trace metals and other contaminants in the environment. Oxford, UK, Elsevier.
- Michel, P. H., J. Bloem. 1993. Conversion factors for estimation of cell production rates of soil bacteria from thymidine and leucine incorporation. Soil Biology and Biochemistry 25:943-950.
- Mulder, C., T. Aldenberg, D. De Zwart, H.J. Van Wijnen, A.M. Breure. 2005. Evaluating the impact of pollution on plant-Lepidoptera relationships. Environmetrics 16:357-373.
- Mulder, C., A.M. Breure. 2003. Plant biodiversity and environmental stress, Pages 501-525 in B.A. Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister, eds. Bioindicators and Biomonitors, Trace Metals and other Contaminants in the Environment 9, Elsevier.
- Mulder, C., C.R. Janssen. 1999. Occurrence of pollen and spores in relation to present-day vegetation in a Dutch heathland area. Journal of Vegetation Science 10:87-100.
- Mulder, C., H.J. Van Wijnen, H.A. Den Hollander, A.J. Schouten, M. Rutgers, A.M. Breure. 2004. Reference assemblages for soil ecosystems: evaluating functions and ecological services. RIVM rapport 607604006.
- Muyzer, G., E.C. De Waal, A.G. Uiterlinden. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16rRNA. Applied and Environmental Microbiology 59:695-700.

- Notenboom, J., H.J.P. Eijssackers, F.A. Swartjes. 1995. Beoordelingssystematiek bodemkwaliteit ten behoeve van bouwvergunningaanvragen. Deel III. Methodiek ter bepaling van het actuele risico voor het ecosysteem. RIVM rapport 715810003.
- OECD. 1984. Guideline for testing of chemicals. No. 201. Alga, Growth Inhibition Test. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD. 2000a. Guideline for testing of chemicals. No. 216. Soil Microorganisms, Nitrogen Transformation Test. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD. 2000b. Guideline for testing of chemicals. No. 217. Soil Microorganisms, Carbon Transformation Test. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD. 2002. Guideline for testing of chemicals. Revised proposal for a new guideline 221. No. 221. Lemna sp. Growth Inhibition Test. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD. 2003. Guideline for testing of chemicals. Proposal for updating guideline 208. Terrestrial Plant Test No. 208. A Seedling Emergence and Seedling Growth Test. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD. 2004. Guideline for testing of chemicals. No. 202. Daphnia sp., Acute Toxicity Test and Reproduction Test. Paris, Organization for Economic Cooperation and Development.
- Oostenbrink, M. 1960. Estimating nematode populations by some selected methods, Pages 85-102 in J.N. Sasser, W.R. Jenkins, eds. Nematology Fundamentals and recent advances with emphasis on plant parasites and soil forms. Chapel Hill, The University of North Carolina Press.
- Posthuma, L., G.W. II. Suter, T.P. Traas. 2002. Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology. Pensacola, FL, USA, CRC Press.
- Rutgers, M., M. Mesman, P. Otte. 2005. 1170- TRIADE: Instrumentarium voor geïntegreerde ecotoxicologische beoordeling van bodemverontreiniging. Leidraad Bodembescherming, afl. 26, SDU Uitgevers, Den Haag, pp. 1170/1 – 1170/26
- Rutgers, M., T. Aldenberg, R.O.G. Franken, D.T. Jager, J.P.A. Lijzen, W.J.G.M. Peijnenburg, A.J. Schouten et al. 2000a. Ecologische risicobeoordeling van verontreinigde (water)bodem - voorstellen ter verbetering van de urgentiesystematiek. Ecological risk assessment of contaminated soil and sediment - proposals for improvement of the Dutch urgency system. RIVM rapport 711701018.
- Rutgers, M., J.J. Bogte, E.M. Dirven-Van Breemen, A.J. Schouten. 2001. Locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling - praktijkonderzoek met een kwantitatieve Triade-benadering. RIVM rapport 711701026.
- Rutgers, M., A.M. Breure. 1999. Risk assessment, microbial communities, and pollution-induced community tolerance. Human and Ecological Risk Assessment 5:661-670.
- Rutgers, M., J. Faber, J. Postma, H. Eijssackers. 1998a. Locatiespecifieke ecologische risico's: een basisbenadering voor functiegerichte beoordeling van bodemverontreiniging. Wageningen, Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek.
- Rutgers, M., J. Postma, J. Faber. 2000b. Uitwerking van de Basisbenadering voor de locatiespecifieke, functiegerichte ecologische risicobeoordeling van bodemverontreiniging voor de praktijk. Wageningen, Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek.
- Rutgers, M., I.M. Van't Verlaat, B. Wind, L. Posthuma, A.M. Breure. 1998b. Rapid method for assessing Pollution-Induced Community Tolerance in contaminated soil. Environmental Toxicology and Chemistry 17:2210-2213.
- Schamiée, J.H.J., A.H.F. Stortelder, E.J. Weeda. 1996. De vegetatie van Nederland.
- Schouten, A.J., K.K.M. Arp. 1991. A comparative study on the efficiency of extraction methods for nematodes from different forest litters. Pedobiologia 35:393-400.
- Schouten, A.J., J. Bloem, G. Jagers op Akkerhuis, H. Keidel, M. Rutgers. 2002. Bodembioologische Indicator 1999. Ecologische kwaliteit van graslanden op zandgrond bij drie categorieën melkveehouderijbedrijven. RIVM rapport 607604003.
- Schouten, A.J., J.J. Bogte, E.M. Dirven-Van Breemen, M. Rutgers. 2003a. Locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling- praktijkonderzoek met de TRIADE-benadering. RIVM rapport 711701032.
- Schouten, A.J., T. Breure. 2001. Ontwikkeling van de bodembioologische indicator: Meten van ecologische kwaliteit van bodem. Bodem 3:96-98.

- Schouten, A.J., L. Brussaard, P.C. De Ruiter, H. Siepel, N.M. Van Straalen. 1997. Een indicatorsysteem voor life support functies van de bodem in relatie tot biodiversiteit. RIVM rapport 712910005.
- Schouten, A.J., E.M. Dirven-Van Breemen, J.J. Bogte, M. Rutgers. 2003b. Locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling. Praktijkonderzoek met de TRIADE-benadering: deel 3. RIVM rapport 711701036.
- Schouten, A.J., M. Rutgers, A.M. Breure. 2001. BoBI op weg. Tussentijdse evaluatie van het project Bodembioologische Indicator. RIVM rapport 607604002.
- Siepel, H. 1994. Life-history tactics of soil microarthropods. *Biology and Fertility of Soils* 18:263-278.
- Siepel, H., E.M. Ruiter-Dijkman. 1993. Feeding guilds of oribatid mites based on their carbohydrase activities. *Soil Biology and Biochemistry* 25:1491-1497.
- Sijm, D., J.P.A. Lijzen, W. Peijnenburg, E. Sneller, T.P. Traas, E.M.J. Verbruggen. 2002. Biobeschikbaarheid in beleid ... wat er aan vooraf ging en wat nog komt. Resultaten van een workshop en het beleidsvervolg. Bioavailability in standard setting, results of a workshop, RIVM/RIZA rapport 607220006.
- Sims, R.W., B.M. Gerard. 1985. Earthworms: keys and notes for the identification and study of the species. London, Publ. for The Linnean Society of London & The Estuarine and Brackish-Water Sciences Assn.
- Slenders, H., A. Haselhoff, H. Leenaers, A. Sinke, M. Nijboer. 2004. ROSA Praktijkdocument voor het maken van keuzes bij mobiele verontreinigingen, SKB, VROM, TAUW, TNO L1 - <http://www.bodembreed.nl/upload/documents/SV-614%20eindrapport%20ROSA.pdf>.
- Snell, T.W., B.D. Moffat, C.R. Janssen, G. Persoone. 1991. Acute toxicity tests using rotifers. IV. Effects of cyst age, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachionus calyciflorus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 21:308-317.
- Sorensen, F.F., J.M. Weeks, E. Baatrup. 1997. Altered locomotory behavior in woodlice (*Oniscus asellus* (L)) collected at a polluted site. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16:685-690.
- Spurgeon, D.J., C. Svendsen, P. Hankard, J.M. Weeks, P. Kille, S. Fishwick. 2002. Review of sublethal ecotoxicological tests for measuring harm in terrestrial ecosystems. Bristol, United Kingdom, Environment Agency.
- Struijs, J., R. Van de Kamp, D. De Zwart, R. Ritsema. 2000. Toxic pressure in surface water, a pilot on new monitoring techniques. RIVM rapport 607200003.
- Swartjes, F.A. 1999. Risk-based assessment of soil and groundwater quality in the Netherlands: Standards and remediation urgency. *Risk Anal.* 19:1235-1249.
- US-EPA. 1998. Guidelines for ecological risk assessment. Risk Assessment Forum, Washington, DC, USA, US EPA.
- Van Beelen, P., M. Wouterse, L. Posthuma, M. Rutgers. 2004. Location Specific Ecotoxicological Risk Assessment of metal-polluted soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23:2769-2779.
- Van Beusekom, S.A.M., W. Admiraal, A. Sterkenburg, D. De Zwart. 1999. Handleiding PAM-Test. ECO-notitie 98/09.
- Van der Meijden, R. 1996. Heukels' Flora van Nederland. Groningen Wolters-Noordhoff.
- Van der Meijden, R., C.L. Plate, E.J. Weeda. 1989. Atlas van de Nederlandse Flora, v. 1-3, Rijksherbarium Leiden/Centraal Bureau voor Statistiek Voorburg/Heerlen.
- Van der Waarde, J.J., J.G.M. Derksen, A.F. Peekel, H. Keidel, J. Bloem, H. Siepel. 2001. Risicobeoordeling van bodemverontreiniging met behulp van een TRIADE benadering met chemische analyses, bioassays en biologische veldinventarisaties. Gouda, Nederlands Onderzoeksprogramma Biotechnologische In-Situ Sanering (NOBIS).
- Van der Waarde, J.J., M. Wagelmann, T. Crommentuijn, M. Hopman, J. De Jonge, M. Rutgers. 2003. PERISCOOP - Platform ecologische risicobeoordeling, SKB
- Van Dort, K., C. Buter, P. Van Wielink. 1998. Veldgids mossen: KNNV Veldgidsen 10. Utrecht, KNNV.
- Van Elsas, J.D., M. Rutgers. 2005. Soil microbial diversity and community composition *in* J. Bloem, D.W. Hopkin, A. Benedetti, eds. *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*, CAB International.

- Van Elswijk, M., J.A. Hin, P.J. Den Besten, L.M. Van der Heide, M. Van der Hout, C.A. Schmidt. 2002. Richtlijn nader onderzoek voor waterbodems. Lelystad, AKWA/RIZA.
- VNG. 1992. Omgaan met bodemsanering. Een gemeentelijke visie. Den Haag, VNG.
- VROM. 1999. Stoffen en Normen. Alphen a/d Rijn, Samsom.
- VROM. 2000. Circulaire streef- en interventiewaarden bodemsanering, Pages 8-35, Staatscourant. Den Haag, SDU.
- VROM. 2003. Beleidsbrief Bodem.
- Warren-Hicks, W., B.R. Parkhurst, S.S. Baker Jr. 1991. Ecological Assessments of Hazardous Waste Sites: A Field and Laboratory Reference. Corvallis, Oregon, Environmental Protection Agency, Environmental Research Laboratory.
- Yeates, G.W., Bongers, T., De Goede, R.G.M., Freckman, D.W., Georgieva, S.S. 1993. Feeding habits in soil nematode families and genera - an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology* 25:315-331.