

RIVM rapport 711701027

**Relatieve orale biobeschikbaarheid van  
contaminanten in bodem.**

Werkzaamheden 1996-2001 met koppeling aan  
beleidsvragen.

C.J.M. Rompelberg en L.L. de Zwart

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

## Abstract

In current risk assessment of soil contaminants, oral bioavailability of contaminants from soil in humans ( $F_{\text{soil}}$ ) is considered to be equal to the bioavailability of contaminants from the matrix used in the toxicological studies ( $F_{\text{matrix tox. study}}$ ) underlying the Maximal Permissible Risk level. There are indications that this consideration is not valid. Research on relative bioavailability factors ( $= F_{\text{soil}} / F_{\text{matrix tox. study}}$ ) of soil contaminants is needed for more insight into relative bioavailability factors and to decide whether risk assessment can be improved by experimental determination of these factors. The (still ongoing) research on relative bioavailability factors of soil contaminants at the Laboratory of Exposure Assessment and Environmental Epidemiology of the National Institute for Public Health and the Environment in the 1996-2001 period has been summarised in the current report. To date, an *in vitro* digestion model and a (preliminary) mathematical model have been developed and tested to explore the relative bioavailability of contaminants in soil. It can be concluded that both models are promising tools to study relative bioavailability factors. The current report will be used to decide how research has to be continued.

# Inhoud

<b>SAMENVATTING.....</b>	<b>5</b>
<b>1. INLEIDING .....</b>	<b>7</b>
1.1 INLEIDING.....	7
1.2 Orale biobeschikbaarheid .....	7
1.2.1 <i>Definitie van orale biobeschikbaarheid</i> .....	7
1.2.2 <i>Effect van matrix op orale biobeschikbaarheid</i> .....	8
1.3 Risicoschatting bodem.....	9
1.3.1 <i>MTR<sub>humaan</sub></i> .....	9
1.3.2 <i>Berekening SRC<sub>humaan</sub> in CSOIL</i> .....	9
1.3.3 <i>Relatieve F in CSOIL</i> .....	10
1.4 Doelstelling deelproject.....	10
<b>2. KOPPELING AAN BELEIDSVRAGEN .....</b>	<b>11</b>
2.1 Inleiding.....	11
2.2 Locatiespecifiek: urgentie tot bodemsanering (vraag 1) .....	11
2.3 Verbetering interventiewaarden (vraag 2).....	12
<b>3. WERKWIJZE: UITWERKING DOELSTELLING .....</b>	<b>15</b>
3.1 Te bepalen parameters voor relatieve F .....	15
3.2 Aanpak voor bepaling Fb <sub>grond</sub> .....	17
3.2.1 <i>Opzetten van het in vitro digestiemodel</i> .....	17
3.2.2 <i>Contaminanten</i> .....	17
3.2.3 <i>De te onderzoeken bodemonsters</i> .....	18
3.2.4 <i>In vivo validatie</i> .....	18
3.2.5 <i>Methodiekvergelijking</i> .....	18
3.2.6 <i>Mathematisch model</i> .....	19
3.3 Aanpak voor bepaling van Fb <sub>matrix toxstudie</sub> .....	19
<b>4. WERKZAAMHEDEN TOT NU TOE.....</b>	<b>21</b>
4.1 <i>In vitro digestiemodel</i> .....	21
4.1.1 <i>Optimalisatie en binnendag- en tussendagvariatie</i> .....	21
4.1.2 <i>Vergelijking galsoorten</i> .....	23
4.1.3 <i>Methodiekvergelijking</i> .....	23
4.1.4 <i>Praktijkmonsters</i> .....	24
4.1.5 <i>In vivo validatie</i> .....	25
4.2 Mathematisch model.....	26
4.3 Relatieve F voor lood.....	27
4.4 Werkzaamheden op internationaal niveau .....	28
<b>5. CONCLUSIES EN DISCUSSIE OVER TOEPASSING VOOR BELEID .....</b>	<b>31</b>
5.1 Haalbaarheid van de methodieken .....	31
5.2 Haalbaarheid van de toepassing van de methodieken .....	31
<b>6. HOE VERDER? .....</b>	<b>33</b>
6.1 <i>In vitro digestiemodel</i> .....	33
6.1.1 <i>Herziene prioriteitenlijst contaminanten</i> .....	33
6.1.2 <i>Optimalisatie en binnend- en tussendagvariatie</i> .....	33
6.1.3 <i>Methodiekvergelijking</i> .....	34
6.1.4 <i>Praktijkmonsters</i> .....	34
6.1.5 <i>In vivo validatie</i> .....	34
6.1.6 <i>In vitro digestiemodel voor gevoede omstandigheden</i> .....	34
6.2 Methodiek ter bepaling van Fb <sub>matrix toxstudie</sub> ?.....	34
6.3 Mathematisch model .....	35
<b>DANKBETUIGING .....</b>	<b>36</b>

<b>LITERATUUR .....</b>	<b>37</b>
<b>BIJLAGE 1 PROJECTPLAN BARGE.....</b>	<b>39</b>
Abstract .....	40
<b>GENERAL INTRODUCTION .....</b>	<b>41</b>
<b>STATUS QUO RESEARCH.....</b>	<b>41</b>
<b>OBJECTIVES .....</b>	<b>42</b>
<b>MOTIVATION .....</b>	<b>42</b>
<b>ORGANIZATION AND TIME TABLE .....</b>	<b>42</b>
<b>ORGANIZATION.....</b>	<b>43</b>
<b>TIME TABLE .....</b>	<b>43</b>
<b>COSTS .....</b>	<b>44</b>
<b>DELIVERABLES .....</b>	<b>44</b>
<b>BIJLAGE 2 VERZENDLIJST.....</b>	<b>45</b>

## Samenvatting

Eén van de parameters die voor de huidige humane risicoschatting van contaminanten in bodem van belang is, is de relatieve biobeschikbaarheidsfactor (relatieve F). De relatieve F is een ratio van twee biobeschikbaarheidsfactoren  $F_{\text{grond}}$  (gedefinieerd als de orale biobeschikbaarheid van een contaminant uit grond) en  $F_{\text{matrix toxstudie t.b.v MTR}}$  (gedefinieerd als de orale biobeschikbaarheid van een contaminant uit de matrix die in de toxiciteitsstudies ter onderbouwing van het humaan toxicologisch maximaal toelaatbaar risico wordt gebruikt). Tot nu toe wordt de relatieve F voor alle contaminanten (m.u.v. lood) op 1 gesteld. Dit betekent dat  $F_{\text{grond}}$  gelijk wordt verondersteld aan  $F_{\text{matrix toxstudie t.b.v MTR}}$ . Er zijn aanwijzingen dat dit lang niet altijd het geval hoeft te zijn.

Om meer inzicht te krijgen in relatieve biobeschikbaarheidsfactoren en om te beslissen of de risicoschatting verbeterd kan worden door het experimenteel bepalen van deze factoren is onderzoek naar deze relatieve biobeschikbaarheidsfactoren noodzakelijk.

In dit rapport wordt een overzicht gegeven van het onderzoek naar relatieve biobeschikbaarheidsfactoren van beleidsrelevante contaminanten uit bodem zoals onderzocht in het deelproject M/711701/01/OB “Relatieve orale biobeschikbaarheid van contaminanten in bodem” (periode: 1996-2001). Naast de methodiekontwikkeling voor het bepalen van de relatieve F, komt in dit rapport ook de beleidsmatige kant aan de orde. Er wordt nagegaan en uiteengezet bij welke facetten van de risicoschatting voor bodem het experimenteel bepalen van relatieve F van nut kan zijn.

Orale biobeschikbaarheid kan verdeeld worden in een aantal deelprocessen (bioaccessibility, intestinale absorptie en metabolisme). In het rapport wordt uiteengezet welke deelprocessen van orale biobeschikbaarheid experimenteel bepaald moeten worden om de relatieve F te kunnen bepalen. Dit blijkt afhankelijk te zijn van de mate van beschikbaarheid van gegevens over de verschillende deelprocessen. Data over het eerste deelproces van orale biobeschikbaarheid, de bioaccessibility ( $F_b$ ), zijn (meestal) niet voor handen en zullen derhalve experimenteel bepaald moeten worden. Bioaccessibility wordt gedefinieerd als de fractie van een dosis die tijdens het verteringsproces in het maagdarmkanaal vrijkomt uit de matrix en beschikbaar is voor absorptie in de dunne darm. De bioaccessibility is dus afhankelijk van de matrix waar de contaminant zich in bevindt als hij ingeslikt wordt. Om de relatieve F te kunnen bepalen moet de bioaccessibility van een contaminant uit de matrix grond ( $F_{b\text{grond}}$ ) in elk geval bepaald worden. In sommige gevallen moet tevens de bioaccessibility van de contaminant uit de matrix die in de toxiciteitsstudies ter onderbouwing van het humaan toxicologisch maximaal toelaatbaar risico gebruikt is ( $F_{b\text{matrix tox studie}}$ ), bepaald worden.

De methodiekontwikkeling binnen deelproject M/711701/01/OB “Relatieve orale biobeschikbaarheid van contaminanten in bodem” was tot nu toe voornamelijk gericht op het experimenteel bepalen van  $F_{b\text{grond}}$  met een *in vitro* digestiemodel, i.e. een “reageerbuismodel” dat de vertering in het maagdarmkanaal simuleert. Tevens is onderzocht of  $F_{b\text{grond}}$  ook met behulp van een mathematisch model voorspeld kan worden (zie hoofdstuk 3 en 4).

In het rapport komen de ontwikkeling en de haalbaarheid van zowel het *in vitro* digestiemodel als het mathematisch model aan de orde. Uit de experimenten die reeds zijn uitgevoerd blijkt dat het mogelijk is om de  $F_{b\text{grond}}$  te bepalen met behulp van het *in vitro* digestiemodel. Momenteel kan de  $F_{b\text{grond}}$  voor lood, arseen, cadmium, benzo(a)pyreen en benzo(a)anthraceen bepaald worden. Het moet echter nog blijken of het *in vitro* digestiemodel de *in vivo* situatie goed simuleert.

Er is een eerste aanzet gemaakt voor een mathematisch model voor lood en benzo(a)pyreen. De haalbaarheid van het mathematisch model is nog onduidelijk. Hiervoor zijn aanvullende experimenten nodig.

Door het bepalen van de relatieve F van een contaminant kan nagegaan worden of het mogelijk is om antwoord te geven op onderstaande vragen, die beleidsmatig van belang zijn:

- 1) Is sanering op een specifieke locatie noodzakelijk op grond van de humane blootstelling, m.a.w. is er een actueel risico (ligt totale blootstelling boven MTR<sub>humaan</sub>)?
- 2) Kunnen interventiewaarden (SRC<sub>humaan</sub>) aangepast worden door het vervangen van relatieve F = 1 (d.w.z. F<sub>grond</sub> = F<sub>matrix tox studie</sub>) door een contaminant-specifieke waarde voor relatieve F ? Zo ja, welke waarde voor relatieve F kan dan gebruikt worden?

Het *in vitro* digestiemodel lijkt zeer bruikbaar bij de beantwoording van vraag 1.

Uit de experimenten die zijn uitgevoerd blijkt dat F<sub>b<sub>grond</sub></sub> van een gecontamineerd bodemonster bepaald kan worden met behulp van het *in vitro* digestiemodel. De F<sub>b<sub>matrix</sub></sub> toxstudie is tot op heden nog niet bepaald maar kan zeer waarschijnlijk ook bepaald worden in het *in vitro* digestiemodel. Hierbij moet nog bekijken worden of het *in vitro* digestiemodel aanpassing behoeft voor het testen van deze matrix.

De bruikbaarheid van het mathematisch model voor de beantwoording van vraag 1 is nog onduidelijk. Op dit moment is het nog niet mogelijk om voor een specifieke locatie m.b.v. het mathematisch model te voorspellen wat de relatieve F is voor een bepaalde contaminant. De haalbaarheid van zo'n voorspellend model zal na nieuw uit te voeren experimenten moeten worden vastgesteld.

De toepassing van het *in vitro* digestiemodel lijkt op basis van de huidige resultaten van nut te zijn voor beantwoording van de tweede vraag. Voor een contaminant als lood kan geconcludeerd worden dat de verkregen waarden voor de bioaccessibility van lood sterk verschillen per (Nederlands) bodemtype. Hierdoor wordt het bepalen van een generieke waarde voor de relatieve F (anders dan 1) bemoeilijkt. Dit wordt onderschreven door de resultaten van het (voorlopige) mathematische model.

Het rapport eindigt met een aantal suggesties voor vervolgonderzoek (hoofdstuk 6).

# 1. Inleiding

## 1.1 Inleiding

Deze rapportage is opgesteld om een overzicht te krijgen van de opzet en alle werkzaamheden (periode:1996-2001) binnen het deelproject M/711701/01/OB "Relatieve orale biobeschikbaarheid van contaminanten in bodem" en om van daaruit naar de toekomst te kijken. Deelproject M/711701/01/OB maakt onderdeel uit van project M/711701 "Risico's in relatie tot bodemkwaliteit".

In hoofdstuk 1 wordt eerst de context (orale biobeschikbaarheid en risicoschatting van contaminanten in grond) en vervolgens de doelstelling van het deelproject besproken: het bepalen van de relatieve biobeschikbaarheidsfactor (relatieve F).

In hoofdstuk 2 wordt aangegeven welke beleidsvragen er beantwoord kunnen worden door het bepalen van de relatieve F. In hoofdstuk 3 wordt nagegaan welke parameters bepaald moeten worden om de doelstelling te realiseren. Vervolgens wordt aangegeven hoe het onderzoek is opgezet ter bepaling van de betreffende parameters. In hoofdstuk 4 wordt aangegeven welke onderdelen van het onderzoek reeds uitgevoerd zijn. In hoofdstuk 5 worden de uitkomsten bediscussieerd en conclusies ten aanzien van de te beantwoorden beleidsvragen getrokken. In het laatste hoofdstuk wordt uiteengezet hoe het verdere verloop van het deelproject er uitziet.

## 1.2 Orale biobeschikbaarheid

### 1.2.1 Definitie van orale biobeschikbaarheid

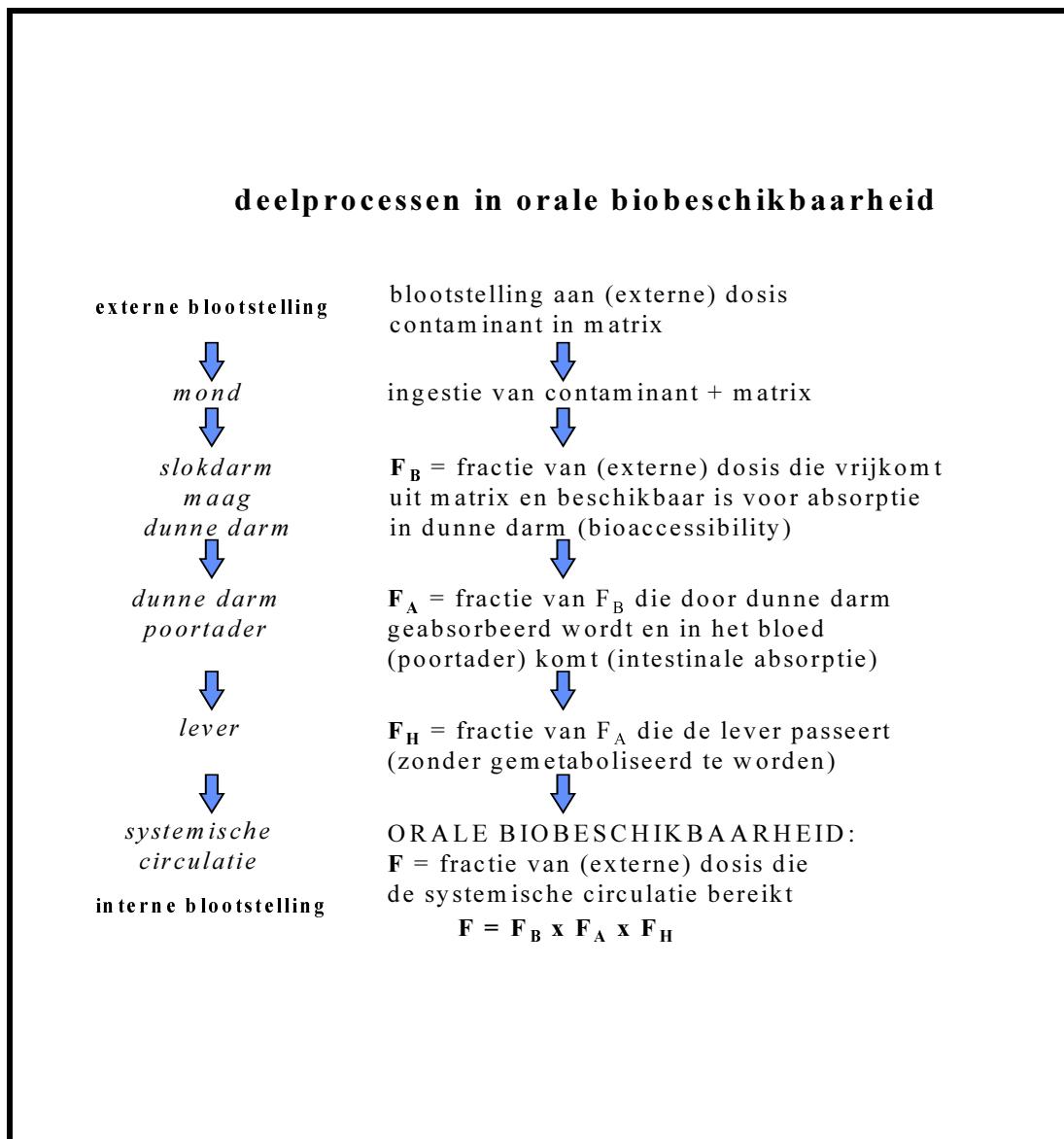
De term biobeschikbaarheid kent vele interpretaties, meestal afhankelijk van het vakgebied waarin onderzoek wordt gedaan. Dit project betreft orale biobeschikbaarheid van contaminanten uit grond. Uit figuur 1.1 kan worden afgeleid dat er drie deelprocessen zijn te onderscheiden die samen de orale biobeschikbaarheid van een stof bepalen: bioaccessibility, intestinale absorptie en metabolisme ( $F = F_b \times F_a \times F_h$ ).

**De term orale biobeschikbaarheid geeft aan welk deel van de externe dosis uiteindelijk tot interne blootstelling leidt.**

De (externe) dosis is de hoeveelheid contaminant/stof die iemand inslikt, inademt etc. Indien een stof wordt ingeslikt wordt de stof pas als "intern" beschouwd nadat de stof vanuit het maagdarmkanaal door de darmwand is geabsorbeerd, door de lever is getransporteerd en in de systemische circulatie (bloedbaan) is terechtgekomen. Onder interne blootstelling wordt dan ook verstaan: de blootstelling aan de hoeveelheid stof/contaminant in de systemische circulatie (en dus ook in de doelwit-organen). Door de externe dosis te vermenigvuldigen met de orale biobeschikbaarheid wordt de interne dosis verkregen die tot interne blootstelling leidt.

**interne dosis = orale biobeschikbaarheid x externe dosis**

waarbij de interne dosis wordt uitgedrukt in mg/kg lichaamsgewicht.



Figuur 1.1 Deelprocessen in orale biobeschikbaarheid.

### 1.2.2 Effect van matrix op orale biobeschikbaarheid

De matrix waarin de contaminant wordt ingenomen (bijv. voeding, drinkwater, grond, etc.) speelt een belangrijke rol bij de bioaccessibility ( $F_b$ ). Naarmate de matrix meer contaminant-deeltjes aan zich bindt zullen er in het maagdarmkanaal minder contaminant-deeltjes in opgeloste vorm aanwezig zijn, die vervolgens voor opname in de darm (intestinal absorptie) in aanmerking komen. Uit de literatuur is bekend dat de biobeschikbaarheid van eenzelfde contaminant sterk kan verschillen bij orale toediening in verschillende matrices (LaVelle *et al.*, 1991; Casteel *et al.*, 1997): De bioaccessibility van een contaminant is maximaal indien toegediend als een oplossing ( $F_b = 1$ ); de bioaccessibility is veelal lager bij toediening via voeding of grond ( $F_b < 1$ ).

**Bij blootstelling aan een externe dosis van een contaminant dient men rekening te houden met het effect van de matrix op de orale biobeschikbaarheid en dus op de interne dosis van de contaminant. Deze interne dosis kan, bij dezelfde externe dosis, verschillend zijn voor verschillende matrices waarin de contaminant zich bevindt.**

## 1.3 Risicoschatting bodem

Sinds 1991 wordt het humane blootstellingsmodel CSOIL in Nederland gebruikt voor het afleiden van interventiewaarden. De eerste tranche interventiewaarden zijn in 1994 in werking getreden. Recent zijn deze interventiewaarden geëvalueerd en zijn SRC<sub>humaan</sub> (human-toxicological serious risk concentration) afgeleid voor alle stoffen van deze eerste tranche interventiewaarden (Lijzen *et al.*, 2001).

### 1.3.1 MTR<sub>humaan</sub>

Het MTR<sub>humaan</sub> (humaan toxicologisch maximaal toelaatbaar risico; uitgedrukt in  $\mu\text{g}/\text{kg lichaamsgewicht}^{-1} \cdot \text{dag}^{-1}$ ) vormt samen met de blootstellingsmodellering (CSOIL) de basis voor de SRC<sub>humaan</sub> (voor gedetailleerde info zie Lijzen *et al.*, 2001). Het MTR<sub>humaan</sub> wordt gedefinieerd als de hoeveelheid van een stof waaraan een individu dagelijks gedurende zijn/haar leven kan worden blootgesteld zonder significante gezondheidsrisico's (Baars *et al.*, 2001). Er zijn MTR-waarden voor orale en inhalatoire blootstelling.

Het MTR<sub>humaan</sub> wordt in het algemeen als volgt afgeleid voor een niet-genotoxische contaminant:

$$\text{MTR}_{\text{humaan}} = \text{NOAEL} / (\text{VF}_1 \times \text{VF}_2 \times \dots)$$

- NOAEL (no observed adverse effect level) = hoogste **externe** dosis, waarbij geen stof gerelateerd nadelig effect is waargenomen. Deze NOAEL wordt meestal bepaald in een toxiciteitsstudie met proefdieren, waarbij de contaminant aan het voer wordt toegevoegd of d.m.v. een oplossing/suspensie in de maag wordt toegediend. De orale biobeschikbaarheid wordt in deze studies meestal niet bepaald.
- VF = Veiligheidsfactor, o.a. voor interspeciesverschillen tussen proefdier en mens en voor intraspeciesverschillen (tussen mensen onderling)

### 1.3.2 Berekening SRC<sub>humaan</sub> in Csoil

Voor het berekenen van de dagelijkse blootstelling aan een contaminant via ingestie van grond wordt gebruik gemaakt van onderstaande formule uit Csoil (Van den Berg, 1995; Lijzen *et al.*, 2001):

$$\text{DI} = \text{AID} * \text{Cs} * \text{relatieve F/W}$$

waarbij

DI	: dagelijkse opname via ingestie van grond	$[\text{mg contaminant} \cdot \text{kg lichaamsgewicht}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}]$
AID	: dagelijkse innamehoeveelheid grond	$[\text{kg grond (d.s.)} \cdot \text{d}^{-1}]$
	volwassene: $50 * 10^{-6}$	
	kind: $100 * 10^{-6}$	
Cs	: gehalte in de bodem	$[\text{mg contaminant} \cdot \text{kg bodem}^{-1}]$
Relatieve F	: relatieve biobeschikbaarheidsfactor, op 1 gesteld (m.u.v. lood: 0,6) (zie 2.1.2.4)	

W	: lichaamsgewicht	[kg lichaamsgewicht]
	volwassene: 70	
	kind: 15	

Om de totale blootstelling (= levenslanggemiddelde dagelijkse blootstelling ( $\text{mg contaminant} \cdot \text{kg lichaamsgewicht}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) te berekenen wordt de blootstelling via de verschillende blootstellingsroutes (ingestie van grond, ingestie van gewas, inhalatie en eventueel dermaal) opgeteld. Het gehalte van de contaminant in de bodem waarbij de totale blootstelling gelijk is aan het  $\text{MTR}_{\text{humaan}}$  is dan de  $\text{SRC}_{\text{humaan}}$ . Deze risicogrens wordt berekend met het CSOIL model.

### 1.3.3 Relatieve F in CSOIL

De relatieve F is een ratio van twee biobeschikbaarheidsfactoren  $F_{\text{grond}}$  en  $F_{\text{matrix toxstudie t.b.v MTR}}$ .  $F_{\text{grond}}$  is gedefinieerd als de orale biobeschikbaarheid van een contaminant uit grond.  $F_{\text{matrix toxstudie t.b.v MTR}}$  is gedefinieerd als de orale biobeschikbaarheid van een contaminant uit de matrix die in de toxiciteitsstudies ter onderbouwing van het  $\text{MTR}_{\text{humaan}}$  is gebruikt (Lijzen *et al*, 2001).

$$\text{relatieve F} = F_{\text{grond}} / F_{\text{matrix toxstudie t.b.v MTR}}$$

De relatieve F wordt tot nu toe voor alle stoffen (m.u.v. lood) op 1 gesteld (Lijzen *et al*, 2001). Dit betekent dat de biobeschikbaarheid van een contaminant uit grond gelijk wordt verondersteld aan de biobeschikbaarheid van dezelfde contaminant uit de matrix die in de toxiciteitsstudies ter onderbouwing van het  $\text{MTR}_{\text{humaan}}$  is gebruikt.

## 1.4 Doelstelling deelproject

In dit deelproject is nader onderzoek naar de relatieve F gedaan zodat een meer realistische inschatting van relatieve F en dus ook van het humane risico van bodemcontaminatie en van  $\text{SRC}_{\text{humaan}}$  kan worden gemaakt (zie hoofdstuk 2).

De laagste waarde voor de relatieve F is te verwachten voor die stoffen waarbij het  $\text{MTR}_{\text{humaan}}$  is afgeleid van een toxiciteitsstudie waarbij de contaminant d.m.v. een oplossing is toegediend (bij een oplossing is de bioaccessibility 100%). Daardoor zal  $F_{\text{grond}} < F_{\text{matrix tox studie}}$  (dus relatieve F < 1). Het kan echter ook voorkomen dat de relatieve F groter is dan 1. Dit is te verwachten voor stoffen waarbij het  $\text{MTR}_{\text{humaan}}$  is afgeleid van een toxiciteitsstudie waarbij de contaminant d.m.v. voeding is toegediend en  $F_{\text{grond}} > F_{\text{matrix tox studie}}$ .

**De doelstelling van dit deelproject is het bepalen van relatieve biobeschikbaarheidsfactoren (relatieve F =  $F_{\text{grond}} / F_{\text{matrix tox studie}}$ ) voor een aantal beleidsrelevante contaminanten.**

## 2. Koppeling aan beleidsvragen

### 2.1 Inleiding

De onderliggende beleidsvraag voor het bepalen van de relatieve F is de vraag of de humane risicoschatting van contaminanten in bodem verbeterd kan worden door het nauwkeurig bepalen van de relatieve F en vervolgens deze waarde toe te passen bij de risicoschatting. Er zijn aanwijzingen dat een relatieve F van 1, die tot nu toe gebruikt wordt, niet altijd op hoeft te gaan. Hierdoor ontstaat de behoefte om de relatieve F te onderbouwen.

Het bepalen van de relatieve F van een aantal beleidsrelevante contaminanten kan zowel voor een specifieke locatie als voor “de Nederlandse bodem” worden uitgevoerd. Hierdoor kunnen er twee vragen beantwoord worden.

- 1) Is sanering op een specifieke locatie noodzakelijk op grond van de humane blootstelling (is er een actueel risico: ligt totale blootstelling boven MTR<sub>humaan</sub>? )?
- 2) Kunnen interventiewaarden (SRC<sub>humaan</sub>) aangepast worden door het vervangen van relatieve F = 1 (d.w.z. F<sub>grond</sub> = F<sub>matrix tox studie</sub>) door een contaminant-specifieke waarde voor relatieve F ? Indien ja, welke waarde voor relatieve F kan dan gebruikt worden?

De aanpak om tot het beantwoorden van deze twee inhoudelijke vragen te komen, wordt uitgewerkt in onderstaande paragrafen.

### 2.2 Locatiespecifiek: urgentie tot bodemsanering (vraag 1)

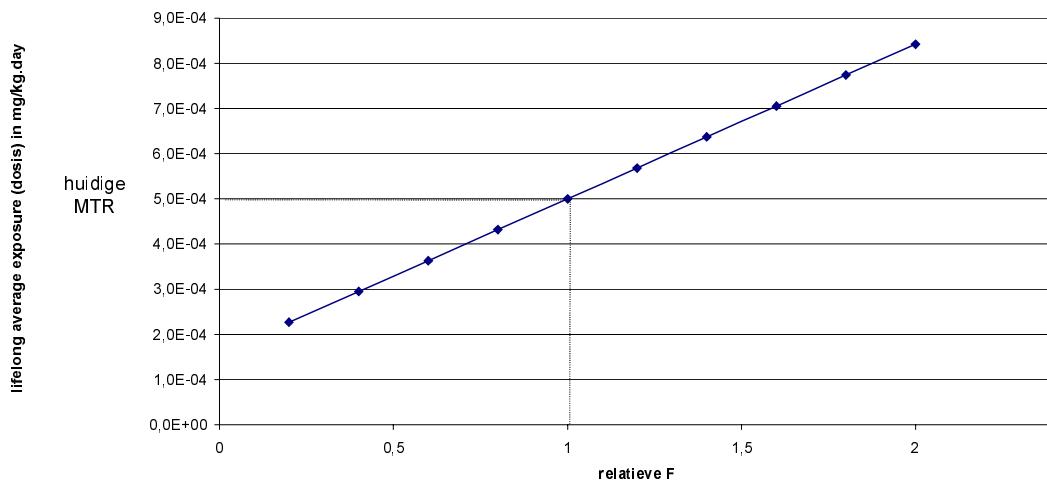
Bij een bodemsanering wordt eerst nagegaan of er sprake is van een potentieel risico. Hierbij wordt per contaminant nagegaan of de interventiewaarde op die locatie wordt overschreden. Indien de interventiewaarde wordt overschreden is er sprake van een potentieel risico.

Vervolgens wordt ter bepaling van de urgentie nagegaan of er tevens sprake is van een actueel humaan risico, een ecologisch risico en een verspreidingsrisico. Hierbij wordt voor humane risico's nagegaan welke blootstellingsroutes op de betreffende locatie van toepassing zijn en of de totale blootstelling (= levenslanggemiddelde dagelijkse blootstelling) aan de betreffende contaminant op die specifieke locatie hoger is dan het MTR<sub>humaan</sub>. Dit kan worden berekend m.b.v. het formularium beschreven in het softwareprogramma Sanerings Urgentie Systematiek (SUS, versie 2.2) en “Urgentie van bodemsanering. De handleiding” (Koolenbrander, 1995).

Er bestaat de mogelijkheid om aanvullend onderzoek te verrichten naar de inputparameters die de totale blootstelling beïnvloeden (zoals bijvoorbeeld de relatieve biobeschikbaarheidsfactor voor ingestie van grond of de bioconcentratiefactor voor gewassen) om na te gaan of deze voor die specifieke locatie anders zijn dan generiek veronderstelde waarden. De data voor deze parameters kunnen vervolgens worden ingevoerd in de betreffende formules ter berekening van de totale blootstelling. Indien blijkt dat deze totale blootstelling lager is dan het MTR<sub>humaan</sub> is er geen sprake van een actueel risico. Binnen dit project wordt nader onderzoek verricht naar de inputparameter “relatieve biobeschikbaarheidsfactor voor ingestie van grond”.

Door bepaling van de relatieve F van een specifieke locatie kan blijken dat de generieke waarde (=1) vervangen kan worden door een waarde < 1. Dit kan er toe leiden dat met name

voor stoffen waarbij grondingestie de belangrijkste blootstellingsroute is, totale blootstelling lager wordt dan de MTR. De grootte van het effect van de relatieve biobeschikbaarheidsfactor voor grond op de blootstelling verschilt per contaminant (is o.a. afhankelijk van het belang van de blootstellingsroute grondingestie). Ter illustratie wordt het effect van de grootte van de relatieve F voor grond op de totale blootstelling aan een willekeurige contaminant (in dit geval benzo(a)pyreen) getoond in figuur 2.1. Blootstelling aan benzo(a)pyreen wordt voor 68% veroorzaakt door ingestie van grond.



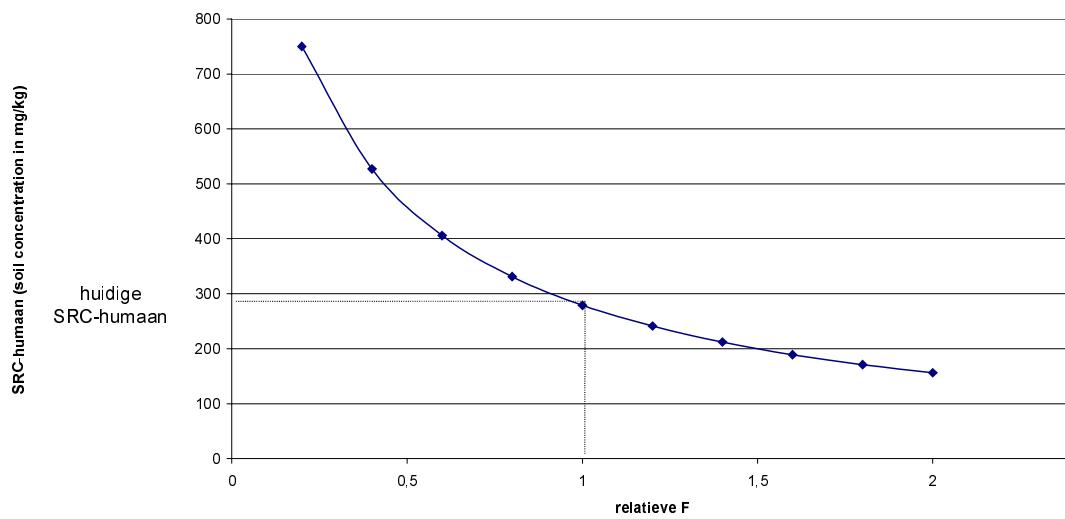
*Figuur 2.1 Effect van de grootte van de relatieve F op de totale blootstelling aan benzo(a)pyreen (bij een totale bodemconcentratie is 279 mg/kg = SRC<sub>humaan</sub>). De stippeellijn geeft de blootstelling aan bij een relatieve F = 1; de huidige situatie.*

## 2.3 Verbetering interventiewaarden (vraag 2)

Binnen dit project wordt per contaminant wordt onderzocht of een generieke waarde voor  $F_{grond}$  gebruikt kan worden. Indien dit niet haalbaar blijkt doordat bepaalde factoren als bodemtype bepalend zijn voor  $F_{grond}$ , wordt onderzocht of factorspecifieke waarden voor  $F_{grond}$  gebruikt kunnen worden. Met deze waarden voor  $F_{grond}$  zal de relatieve F berekend worden.

Ter bepaling van de SRC<sub>humaan</sub> wordt de nieuwe waarde voor de relatieve F meegenomen in de berekening. Dit zal leiden tot aanpassing van de SRC<sub>humaan</sub>.

De grootte van het effect van de relatieve biobeschikbaarheidsfactor voor grond op de SRC<sub>humaan</sub> kan per contaminant verschillen (is o.a. afhankelijk van het belang van de blootstellingsroute grondingestie). Ter illustratie wordt het effect van de grootte van de relatieve F op de SRC<sub>humaan</sub> van een willekeurige contaminant (in dit geval benzo(a)pyreen) getoond in figuur 2.3. Blootstelling aan benzo(a)pyreen wordt voor 68% veroorzaakt door ingestie van grond.



Figuur 2.2 Effect van de grootte van de relatieve  $F$  op de  $SRC_{humaan}$  van benzo(a)pyreen. De stippellijn geeft de  $SRC_{humaan}$  aan bij een relatieve  $F = 1$ ; de huidige situatie.



### 3. Werkwijze: uitwerking doelstelling

#### 3.1 Te bepalen parameters voor relatieve F

De relatieve F is gedefinieerd als:

$$\text{relatieve F} = F_{\text{grond}} / F_{\text{matrix tox studie}}$$

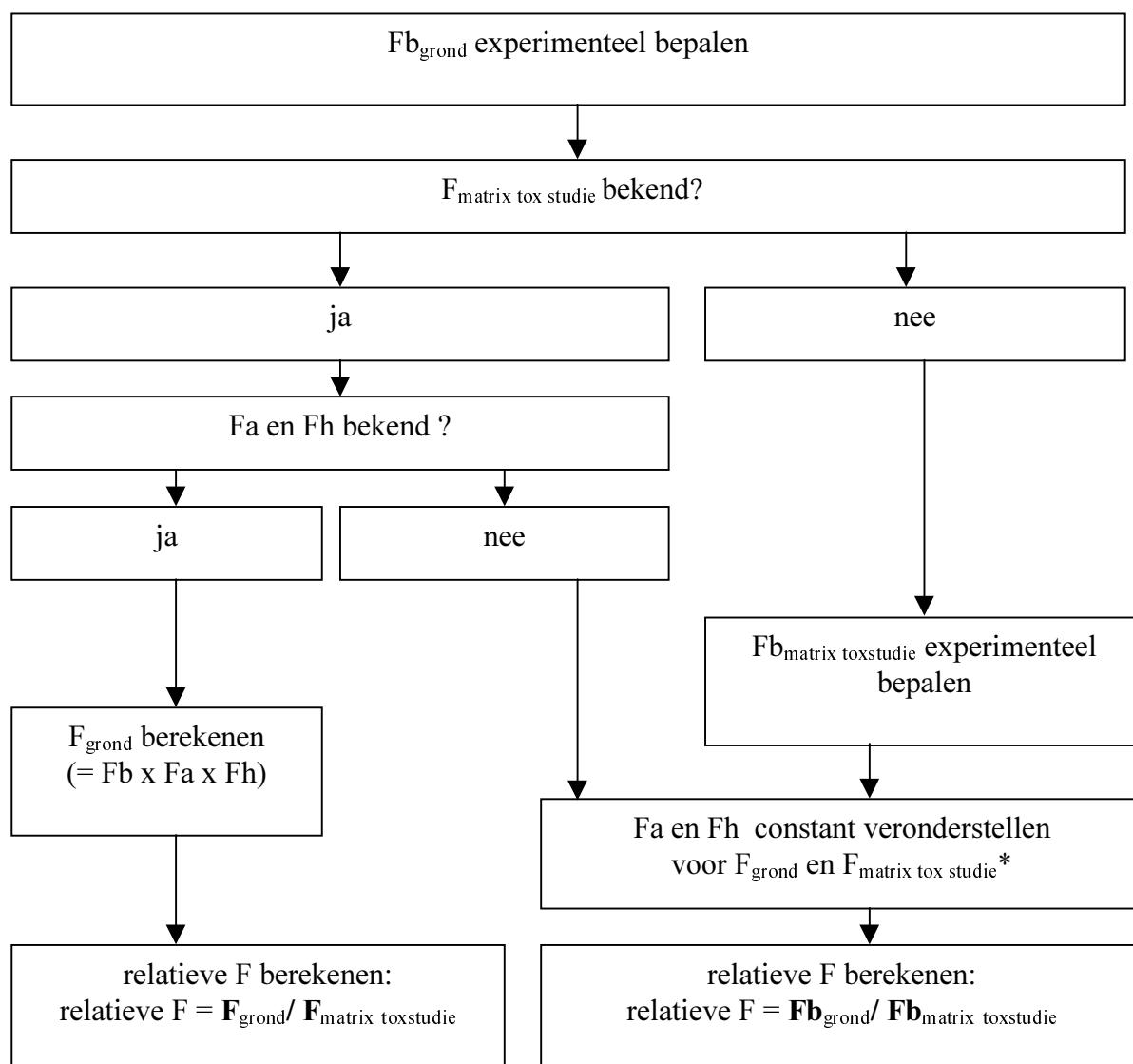
Uit figuur 2.1 blijkt dat F is opgebouwd uit een aantal deelprocessen:  $F = F_b \times F_a \times F_h$

Dit betekent dat relatieve F ook als volgt kan worden geschreven:

$$\text{relatieve F} = (F_{b_{\text{grond}}} \times F_a \times F_h) / (F_{b_{\text{matrix toxstudie}}} \times F_a \times F_h)$$

Voor het bepalen van de relatieve F moet in elk geval  $F_{b_{\text{grond}}}$  experimenteel bepaald worden; in sommige gevallen moet tevens  $F_{\text{matrix tox studie}}$  experimenteel bepaald worden (zie schema 3.1).

*Schema 3.1 Aanpak voor het bepalen van relatieve F van een willekeurige contaminant*



**Ad \***

Hoe waarschijnlijk is de aannname dat Fa en Fh constant zijn bij verschillende matrices? De manier waarop een stof de darmwand passeert en of de stof een substraat is voor een metaboliserend enzym wordt bepaald door de fysisch-chemische eigenschappen van de stof. Dit is een eigenschap van de stof zelf en niet van de toedieningsvorm. Dus meestal is de aanname dat Fa en Fh constant zijn, dus onafhankelijk van de hoe (drank/voeding/bodem) de stof is toegediend, correct. Maar bij stoffen die de darmwand passeren door gebruik te maken van carrier- of transporteiwitten, kan het zijn dat de absorptie niet lineair met de concentratie is (verzadiging) of dat er competitie met bijvoorbeeld voedselcomponenten optreedt. Een voorbeeld hiervan zijn o.a. zware metalen. Darmwandcellen hebben receptoren en transporteiwitten om bijvoorbeeld calcium of andere mineralen in voldoende mate op te kunnen nemen in de darm. Zware metalen maken gebruik van diezelfde transportroutes om de darmwand te passeren. In aanwezigheid van het natuurlijke substraat (bijv. calcium) zal er door competitie minder van het zware metaal de darmwand passeren. In dit geval zal de aanname dat de absorptie onafhankelijk is van de toedieningsvorm (matrix 1 zonder calcium, matrix 2 met calcium) niet juist zijn. Hetzelfde geldt voor metabolisme. Als er in één van beide toedieningvormen een andere stof zit die het metabolisme van de te onderzoeken stof beïnvloedt, is het metabolisme niet onafhankelijk van de toedieningsvorm. Maar vaak zal de aanname, dat absorptie en metabolisme van een stof onafhankelijk is van de matrix waarin de stof wordt toegediend, juist zijn.

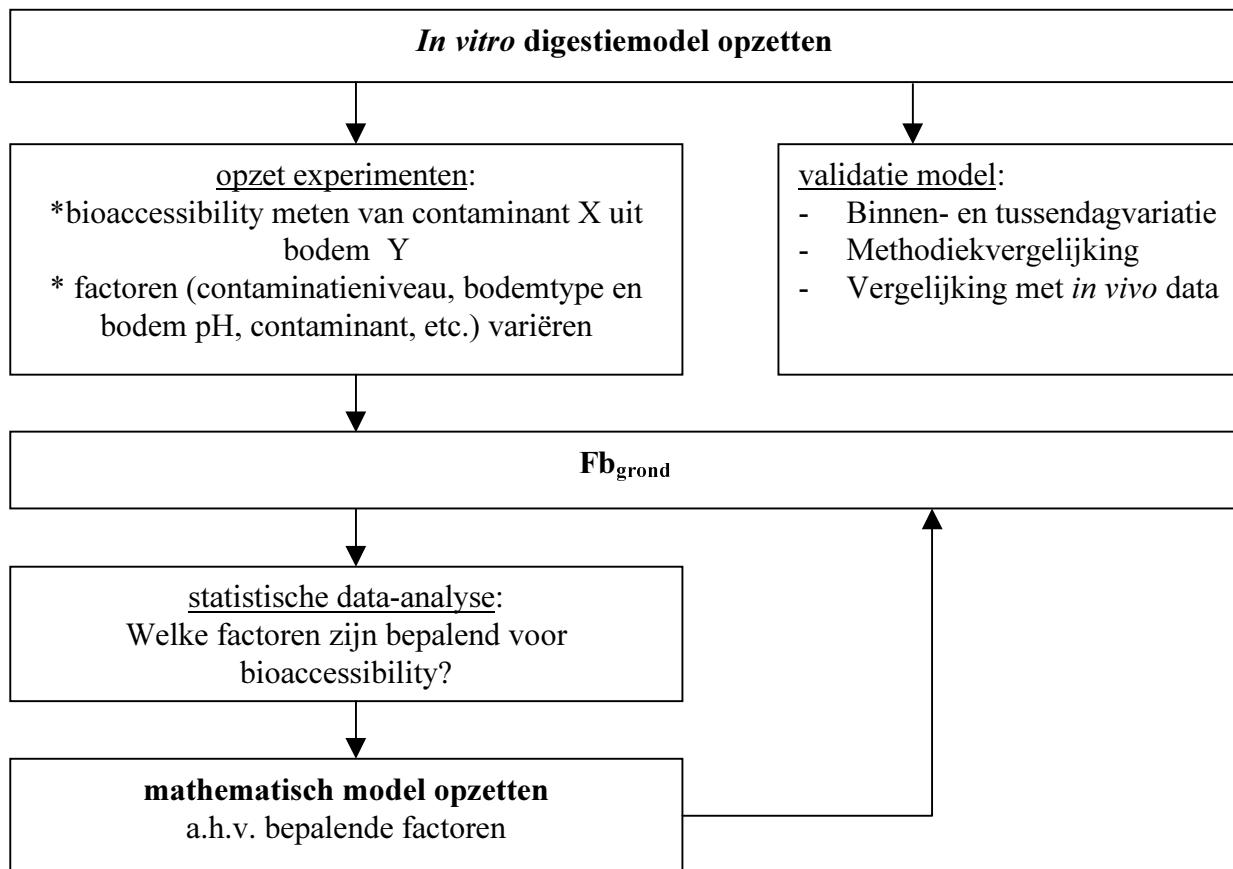
**Conclusie:**

**F<sub>b</sub><sub>grond</sub> moet in elk geval bepaald worden. Per contaminant moet bekijken worden of F<sub>matrix tox studie</sub>, Fa en Fh bekend zijn. Indien (één van) deze parameters niet bekend (is) zijn moet tevens F<sub>b</sub><sub>matrix tox studie</sub> bepaald worden. Tevens moet per contaminant nagegaan worden of het aannemelijk is dat Fa en Fh constant verondersteld worden.**

## 3.2 Aanpak voor bepaling Fb<sub>grond</sub>

De aanpak die gevolgd wordt voor het bepalen van Fb<sub>grond</sub> is schematisch weergegeven in schema 3.2 en wordt verder toegelicht in paragraaf 3.2.1 t/m 3.2.6. Nagegaan wordt of Fb<sub>grond</sub> met behulp van een *in vitro* digestiemodel, dat de vertering in het maagdarmkanaal simuleert, bepaald kan worden. Tevens wordt onderzocht of Fb<sub>grond</sub> ook met behulp van een mathematisch model bepaald kan worden.

*Schema 3.2 Aanpak voor bepaling Fb<sub>grond</sub>*



### 3.2.1 Opzetten van het *in vitro* digestiemodel

Om de bioaccessibility van een contaminant uit grond te kunnen bepalen is bij LBM het *in vitro* digestiemodel van Rotard *et al.* (1995) verder geoptimaliseerd. Deze optimalisatie staat beschreven in RIVM rapport 711701 012 (Sips *et al.*, 2001). Een van de belangrijkste aanpassingen is het model te optimaliseren voor de fysiologie van kinderen.

### 3.2.2 Contaminanten

In 1996 is in overleg met de opdrachtgever (contactpersoon C. Denneman) een prioriteitenlijst opgesteld van de te onderzoeken contaminanten. De stoffen zijn geprioriteerd aan de hand van de volgende vier criteria (op basis van expert judgement):

1. Frequent voorkomen in bodem, met name bovengrond
2. Aanzienlijke bijdrage van blootstellingsroute “ingestie van grond” aan de totale blootstelling

3. Vermoedelijk een groot verschil tussen inname en opname
4. Contaminanten uit representatieve groepen

Vervolgens zijn tot nog toe de volgende contaminanten in het *in vitro* digestiemodel onderzocht. Hierbij is gekozen voor de drie meest prioritaire contaminanten uit de groep “metalen” en uit de groep “organische verbindingen”:

- zware metalen: lood,  
cadmium,  
arseen
- organische verbindingen: B(a)P,  
B(a)A,  
DDT/DDE

Na overleg met de opdrachtgever in juni 2001 is besloten om na te gaan of deze prioriteitenlijst herzien moet worden. Op basis van het rapport 711701023 (Lijzen *et al.*, 2001) wordt een nieuwe prioriteitenlijst opgesteld (selectie criterium: ingestie van contaminant via grond > 50%) (zie paragraaf 6.1.1.1).

### **3.2.3 De te onderzoeken bodemonsters**

Van welke bodemonsters de bioaccessibility zal worden bepaald in het *in vitro* digestiemodel is afhankelijk van de te beantwoorden beleidsvraag (zie 2.3):

- Voor de verbetering van de interventiewaarde is “de Nederlandse bodem” in het *in vitro* digestiemodel getest (zie 2.3.2). Hierbij is gebruik gemaakt van twee soorten monsters, nl. 1) artificieel gecontamineerde bodems en 2) praktijkmonsters.  
Ad 1: Voor het maken van deze monsters is gebruik gemaakt van de 7 meest voorkomende bodemsoorten in Nederland. Deze zijn op verschillende contaminatieniveaus gespiked met de desbetreffende contaminant (0-5 x IW). De bedoeling is dat hiermee onderzocht kan worden wat het effect van het type bodem is op de bioaccessibility en wat het effect is van het contaminatieniveau op de bioaccessibility.  
Ad 2: Dit zijn monsters die in het veld verontreinigd zijn als gevolg van verschillende oorzaken. Deze monsters kunnen gebruikt worden om na te gaan of de artificieel gecontamineerde bodems bioaccessibility-data opleveren die overeenkomen met die van praktijkmonsters.
- Indien de bioaccessibility van een specifieke locatie bepaald moet worden (zie 2.3.1) zullen tevens bodemonsters van deze verontreinigde locatie in het *in vitro* digestiemodel worden getest.

### **3.2.4 In vivo validatie**

Om de betrouwbaarheid van de data verkregen met het *in vitro* digestiemodel als voorspelling voor de mens vast te stellen, is er een *in vivo* validatie van het digestiemodel noodzakelijk. Er zal nagegaan worden hoe deze *in vivo* validatie kan worden uitgevoerd.

### **3.2.5 Methodiekvergelijking**

Ter vergelijking van het *in vitro* digestiemodel van het RIVM met andere digestiemodellen wordt gestreefd naar deelname aan een ringstudie/contact gelegd met andere onderzoekers die werkzaam zijn op dit gebied.

### 3.2.6 Mathematisch model

Het mathematisch model wordt om twee redenen ontwikkeld:

1. Om na te kunnen gaan welke factoren van invloed zijn op  $Fb_{grond}$  (zoals contaminatie-niveau, metaalspeciatie, bodemtype, etc). Hiertoe zullen de bioaccessibility-data van de artificieel gecontamineerde bodems (zie 3.2.3) geanalyseerd worden met het mathematisch model. Op basis van dit model kan worden nagegaan of er een generieke  $Fb_{grond}$  voor “de Nederlandse bodem” kan worden bepaald. Indien dit niet mogelijk blijkt kan worden nagegaan of een factorspecifieke  $Fb_{grond}$  kan worden bepaald.
2. Om na te gaan of het mathematisch model voor voorspellingen van de locatiespecifieke  $Fb_{grond}$  gebruikt kan worden.

## 3.3 Aanpak voor bepaling van $Fb_{matrix toxstudie}$

Per contaminant zal worden nagegaan of het nodig is om  $Fb_{matrix toxstudie}$  experimenteel te bepalen (zie 3.1). Indien nodig, zal worden nagegaan welke matrices gebruikt zijn in de toxiciteitsstudie die ten grondslag liggen aan de  $MTR_{humaan}$ . De  $Fb_{matrix toxstudie}$  kan vervolgens bepaald worden in het *in vitro* digestiemodel. Hierbij moet nog bekijken worden of het *in vitro* digestiemodel aanpassing behoeft voor het testen van deze matrix.



## 4. Werkzaamheden tot nu toe

### 4.1 In vitro digestiemodel

In deze paragraaf worden de verschillende experimenten die met het *in vitro* digestiemodel zijn uitgevoerd samengevat. Per onderdeel worden kort de resultaten weergegeven en vervolgens worden de conclusies en mogelijke knelpunten aangegeven.

#### 4.1.1 Optimalisatie en binnendag- en tussendagvariatie

In tabel 4.1 is een overzicht gegeven van de experimenten t.b.v. het opzetten en valideren van het *in vitro* digestiemodel. Per contaminant is aangeven of er een analysemethode beschikbaar is, of de binnen- en tussendagvariatie is bepaald en of er bodemonsters zijn getest.

*Tabel 4.1: Overzicht van uitgevoerde experimenten t.b.v. opzetten en valideren van *in vitro* digestiemodel*

Contaminant	Analyse voor contaminant gereed?			Binnen- en tussendag- variatie bepaald?	Geteste bodemonsters?	
	in bodem	in chyme	in pellet		Geaddeerd	Praktijk
Pb	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
As	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
Cd	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
DDE/DDT	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee
B(a)P	Nee	Ja	Nee	Ja	Ja	Nee
B(a)A	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Nee

\* contaminatieniveau: 0, 0,5, 1, 3 en 5 x interventiewaarde

*chyme*: darmsap (mengsel van speeksel, maagsap en duodenumsap, zoals dit in de dunne darm voorkomt)

In tabel 4.2 zijn de gegevens van de bioaccessibility data voor de verschillende contaminanten in het *in vitro* digestiemodel samengevat. Meer details voor de contaminanten PbSO<sub>4</sub> en PbNO<sub>3</sub> en B(a)P zijn terug te vinden in Sips *et al.* (2001). De data voor arseen en cadmium zijn slechts indicatief, de spreiding in de getallen is groot (GLP-rapportage 711701-24).

#### Conclusie:

- De tussen- en binnendagvariatie van de bioaccessibility van Pb en BaP (voor data zie rapport 711701012) tonen aan dat het mogelijk is om voor een bodem in te schatten in welke bioaccessibility-categorie deze valt, nl; laag (< 35 %), midden (35-65 %) of hoog (>65 %) bioaccessibility van de contaminant. Per bodemtype kan de bioaccessibility aanzienlijk verschillend zijn.
- De tussen- en binnendagvariatie van de bioaccessibility van As en Cd (voor data zie GLP-rapportage 711701-24) is te groot om betrouwbare uitspraken te kunnen doen. Dit wordt mogelijk veroorzaakt door inhomogeniteit van de artificieel gecontamineerde bodemsoorten.

Tabel 4.2 Bioaccessibility (%) in in vitro digestiemodel met kippengal

<b>Bodem</b>	<b>IW</b>	<b>PbSO<sub>4</sub></b>	<b>PbNO<sub>3</sub></b>	<b>As*)</b>	<b>Cd*)</b>	<b>B(a)P</b>
Zeeklei	0.5	45 ± 15	45 ± 11	76 ± 13	60 ± 12	7 ± 4
	1.0	12 ± 6	8 ± 16	74 ± 4	52 ± 6	8 ± 15
	3.0	12 ± 2	8 ± 7	69 ± 12	51 ± 6	15 ± 14
	5.0	52 ± 9	51 ± 3	90 ± 10	52 ± 15	10 ± 4
Rivierklei	0.5	8 ± 13	24 ± 14	43 ± 8	37 ± 12	2 ± 75
	1.0	10 ± 21	10 ± 18	54 ± 2	34 ± 18	3 ± 36
	3.0	6 ± 25	6 ± 10	59 ± 7	37 ± 10	7 ± 17
	5.0	9 ± 22	32 ± 13	47 ± 34	36 ± 10	7 ± 7
Humusrijk	0.5	43 ± 12	53 ± 5	181 ± 33	136 ± 65	34 ± 4
	1.0	25 ± 13	25 ± 27	98 ± 45	88 ± 19	31 ± 13
	3.0	29 ± 5	18 ± 20	106 ± 45	62 ± 21	15 ± 1
	5.0	49 ± 10	61 ± 16	236 ± 16	57 ± 17	11 ± 10
Humusarm	0.5	61 ± 1	64 ± 6	207 ± 38	111 ± 84	44 ± 6
	1.0	46 ± 3	45 ± 4	143 ± 21	133 ± 51	36 ± 3
	3.0	39 ± 10	51 ± 29	113 ± 40	73 ± 12	21 ± 6
	5.0	47 ± 15	64 ± 15	129 ± 25	64 ± 23	13 ± 1
Stuifzand	0.5	41 ± 10	72 ± 19	174 ± 25	96 ± 11	50 ± 9
	1.0	30 ± 23	20 ± 31	118 ± 48	87 ± 11	44 ± 0
	3.0	28 ± 9	23 ± 18	153 ± 18	88 ± 23	27 ± 4
	5.0	34 ± 27	61 ± 3	180 ± 51	82 ± 5	14 ± 4
Veen	0.5	33 ± 5	45 ± 10	100 ± 14	59 ± 33	6 ± 7
	1.0	22 ± 5	33 ± 6	225 ± 24	55 ± 27	10 ± 7
	3.0	19 ± 8	8 ± 11	172 ± 14	35 ± 13	7 ± 6
	5.0	20 ± 3	39 ± 3	113 ± 51	47 ± 27	5 ± 9
Loss	0.5	43 ± 8	50 ± 3	60 ± 18	67 ± 24	42 ± 3
	1.0	9 ± 9	7 ± 20	72 ± 25	59 ± 13	41 ± 11
	3.0	28 ± 10	7 ± 7	73 ± 4	66 ± 9	40 ± 21
	5.0	43 ± 6	61 ± 5	70 ± 4	62 ± 3	34 ± 10

\*) Getallen niet betrouwbaar door grote spreiding, mogelijk veroorzaakt door inhomogeniteit van de monsters.

- Het lijkt erop dat er een niet-lineair verband is tussen het contaminatieniveau en de bioaccessibility van Pb en B(a)P (Sips *et al.*, 2001).
- Voor As en Cd lijkt het verband tussen het contaminatieniveau en de bioaccessibility lineair te zijn, maar door de grote spreidingen is hierover onvoldoende zekerheid (GLP-rapportage 711701-24, briefrapport 01-05-2000).

### Knelpunten

- Het opzetten van een analysemethode voor DDT/DDE in chyme is niet gelukt. Het was niet mogelijk om een betrouwbare methode op te zetten waarmee gevoelig genoeg gemeten kon worden.
- Inhomogeniteit bodemonsters na spiken met As en Cd (GLP-rapportage 711701-24). Dit kan mogelijk worden opgelost door bodems nat te spiken. Dit zal in vervolgexperimenten worden gedaan.
- Destructie van bodem of pellets van digestiemonster voor bepaling van As, Cd en Pb was niet compleet, waardoor de recovery geen 100 % was (GLP-rapportage 711701-23; -28).

#### 4.1.2 Vergelijking galsoorten

De kippengal die voorheen in het *in vitro* digestiemodel werd gebruikt kan sinds 2000 niet meer geleverd worden. Hierdoor was het noodzakelijk om de overstap naar rundergal of varkensgal te maken. Onderzoek naar de effecten van kippengal versus runder- en varkensgal heeft meer inzicht gegeven in de effecten van modelverschillen (m.n. wat betreft gebruikte galsoort) op de bioaccessibility van lood, cadmium en arseen uit bodem. Voor deze experimenten is gebruik gemaakt van de praktijkbodemmonsters uit de ringstudie van BARGE (zie 4.1.3).

*Tabel 4.3 : Bioaccessibility (%), ± SD) van lood, cadmium en arseen uit verschillende bodemonsters na digestie met verschillende galsoorten (GLP rapportage 711701-28)*

Contaminant	Bodemsoort	rund (ICN)	rund (Sigma)	varken (Sigma)	kip (Sigma)
lood	Oker 11	27 ± 1	25 ± 2	24 ± 0.4	32 ± 1
	Montana 2711	11 ± 2	9 ± 2	17 ± 2	52 ± 0.4
	Flanders	53 ± 7	56 ± 8	55 ± 8	68 ± 10
arsen	Oker 11	18 ± 1	18 ± 1	18 ± 0	19 ± 1
	Montana 2711	50 ± 1	49 ± 1	49 ± 1	54 ± 1
	Flanders	60 ± 3	64 ± 7	64 ± 3	63 ± 3
cadmium	Oker 11	49 ± 1	47 ± 4	46 ± 1	52 ± 1
	Montana 2711	39 ± 2	38 ± 2	39 ± 1	57 ± 1
	Flanders	56 ± 4	59 ± 7	59 ± 5	64 ± 5

#### Conclusie

De bioaccessibility bij digestie met kippengal zijn in verschillende gevallen aanzienlijk hoger dan die voor de andere galsoorten. De bioaccessibility bij digestie met rundergal of varkensgal is vergelijkbaar.

De bioaccessibility van arseen en cadmium uit deze praktijkmonsters vertoond geen grote spreiding, zoals wel werd gevonden bij de artificieel gecontamineerde monsters (zie 4.1.2). Waarschijnlijk zijn de praktijkmonsters homogener dan de artificieel gecontamineerde monsters.

#### Knelpunten

Geen

#### 4.1.3 Methodiekvergelijking

De werkgroep BARGE (Bioavailability Research Group Europe) is opgericht in december 1999. Er hebben een aantal workshops plaatsgevonden en er is een ringstudie uitgevoerd om een eerste zicht te krijgen in de effecten van verschillen in de gebruikte modellen op de gevonden bioaccessibility-resultaten. In deze ringstudie zijn drie verschillende praktijkbodems met contaminaties van arseen, cadmium en lood onderzocht in 5 verschillende *in vitro* digestiemodellen. De gebruikte modellen waren: een statisch maagmodel, 3 verschillende statisch maagdarmkanaal modellen en een dynamisch maagdarmkanaal model. De bioaccessibility waarden van arseen, cadmium en lood van eenzelfde monster varieerden sterk tussen de verschillende *in vitro*-modellen. Er zijn een aantal factoren die de verschillen tussen de verschillende *in vitro*-modellen kunnen veroorzaken, nl.: 1) de verblijftijd van de bodem in de maagdarmkanaal compartimenten, 2) de pH van het maagsap en van het dunne darmsap, 3) de verhouding digestiesap/bodem, 4)

opwerking van de chyme, 5) interspeciesverschillen (in de verschillende modellen is gebruik gemaakt van gal afkomstig van verschillende diersoorten). Tot op heden is het nog niet duidelijk wat de invloed van deze factoren op de bioaccessibility is. Het lijkt er op dat met name de pH in het maagcompartiment bepalend is voor de bioaccessibility van zware metalen. De bioaccessibility waarden gemeten in deze ringstudie waren overwegend < 50 % (Oomen *et al.*, submitted).

#### Conclusie:

De verschillende *in vitro* digestiemodellen laten ook daadwerkelijk grote verschillen in bioaccessibilitywaarden zien. De pH in het maagcompartiment is voor een groot deel bepalend voor de bioaccessibility van zware metalen.

Om de data verkregen uit één van de *in vitro* modellen toe te passen voor risicoschatting is het noodzakelijk om een *in vivo* validatie uit te voeren.

#### Knelpunten:

Geen

### **4.1.4 Praktijkmonsters**

TAUW

In historisch gecontamineerde bodemonsters afkomstig van verschillende lokaties in drie verschillende steden in Nederland is de bioaccessibility van lood onderzocht. Deze monsters zijn bij LBM voor analyse in het *in vitro* digestiemodel aangeboden door dhr. R. Theelen (TAUW Milieu B.V., Deventer). De hoeveelheid lood in deze bodems is door drie externe laboratoria bepaald, waarbij elk laboratorium zijn eigen methode gebruikte. Dit resulterde in substantiële verschillen, wat het moeilijk maakt om een betrouwbare interpretatie te geven van de bioaccessibility data.

#### Bergen op Zoom

In 14 historisch gecontamineerde bodemonsters afkomstig van 5 lokaties in Bergen op Zoom (bemonstering op 2 tot 4 plekken) en in 6 potscherf-monsters afkomstig van 1 lokatie in Bergen op Zoom is de bioaccessibility van lood onderzocht. De bioaccessibility van Pb in deze bodemonsters was middelmatig (gemiddeld 55 %, range: 28-73 %). De bioaccessibility uit potscherven bleek laag (<0.8 %), maar door de hoge concentraties lood in potscherven kan de absolute bioaccessibility toch hoog oplopen. Voor wat betreft de risicoschatting zal moeten worden nagegaan in welke mate ingestie via potscherven een belangrijke blootstellingsroute kan zijn ten opzichte van ingestie van grond.

#### BARGE (ringstudie met praktijkmonsters)

In de ringstudie is gebruik gemaakt van 3 verschillende praktijkbodems die historisch gecontamineerd zijn met arseen, cadmium en lood. Uit deze studie blijkt dat de bioaccessibility afhankelijk is van de bodemsoort. De hoogste bioaccessibiliteiten voor alle drie de metalen werden gevonden in Flanders soil (Tabel 4.3). Dit impliceert dat er mogelijk specifieke bodemkarakteristieken zijn die belangrijk zijn voor de bioaccessibility van metalen in het algemeen. De rankorde van de hoogte van de bioaccessibility van de metalen in de verschillende bodemsoorten was echter niet hetzelfde voor alle metalen. Kennelijk zijn ook metaal-specifieke eigenschappen belangrijk.

#### Conclusie

TAUW: De bioaccessibility van lood varieerden van 2-67 % over de verschillende lokaties. Deze range komt overeen met de range in bioaccessibility van lood gevonden in artificieel gecontamineerde bodems. In beide bodems wordt een trend gevonden van afnemende bioaccessibility waarden bij een toenemend organisch stofgehalte, hoewel deze relatie niet heel duidelijk is. Het organisch stofgehalte van de bodem is mogelijk slechts één van de (vele) factoren die de bioaccessibility bepalen (Sips *et al.*, 2001).

Bergen op Zoom: De bioaccessibility van lood uit potscherven bleek significant lager te zijn dan uit zandgronden zoals aangetroffen in de gemeente Bergen op Zoom. Vergelijking van de bioaccessibility van lood uit de praktijkmonsters met de bioaccessibility van lood uit vergelijkbare artificieel gecontamineerde bodems laat zien dat de bioaccessibility van lood bij een interventiewaarde van 1 en 3 keer de interventiewaarde goed overeen komen. Echter bij een interventiewaarde van 0,5 en 5 keer de interventiewaarde waren de bioaccessibility van lood uit artificieel gecontamineerde monsters hoger (GLP rapportage 711701-20).

Ringstudie BARGE: De bioaccessibility van As, Cd en Pb is verschillend in de verschillende bodemsoorten die getest zijn in de ringstudie. Blijkbaar beïnvloeden factoren als, bodemkarakteristieken, contaminantspeciatie in bodem en/of contaminatieniveau, de bioaccessibility (GLP rapportage 711701-28, Oomen *et al.*, submitted)

#### Knelpunten

Geen

#### **4.1.5 *In vivo* validatie**

Er zijn contacten gelegd met een onderzoeks groep in de VS die ook een *in vitro* digestiemodel hebben ontwikkeld (Ruby) en met een onderzoeks groep in de VS die *in vivo* experimenten (humaan) heeft gedaan met loodhoudende bodems (Maddaloni). Deze laatstgenoemde groep heeft een *in vivo* onderzoek gedaan bij humaan vrijwilligers die loodhoudende grond op een nuchtere maag hebben ingeslikt. Bij een experiment nam groep 1 loodhoudende grond in terwijl groep 2 loodhoudende grond behandeld met fosfaat inslikte. De fosfaat behandeling had tot doel het lood met fosfaat in de grond te complexeren en op die manier een lagere biobeschikbaarheid van lood te veroorzaken. De biobeschikbaarheid van lood van de onbehandelde grond was 42 % vs 13 % van de fosfaat-behandelde grond. Aangezien beide groepen onder nuchtere omstandigheden zijn getest is het onwaarschijnlijk dat de absorptie van lood anders is in beide groepen. Het verschil in biobeschikbaarheid van lood wordt dus waarschijnlijk veroorzaakt door het verschil in bioaccessibility van lood uit de grond. Het is blijkbaar mogelijk om aan monsters van de twee grondsoorten te komen, die ook aan deze vrijwilligers zijn gegeven. Deze monsters kunnen dan in het *in vitro* digestiemodel getest worden en de bioaccessibility kan vergeleken worden met de resultaten van de *in vivo* studie van Maddaloni.

#### Conclusie

Het digestiemodel onder nuchtere omstandigheden kan met behulp van de bodemmonsters die gebruikt zijn in de *in vivo* studie van Maddaloni worden gevalideerd.

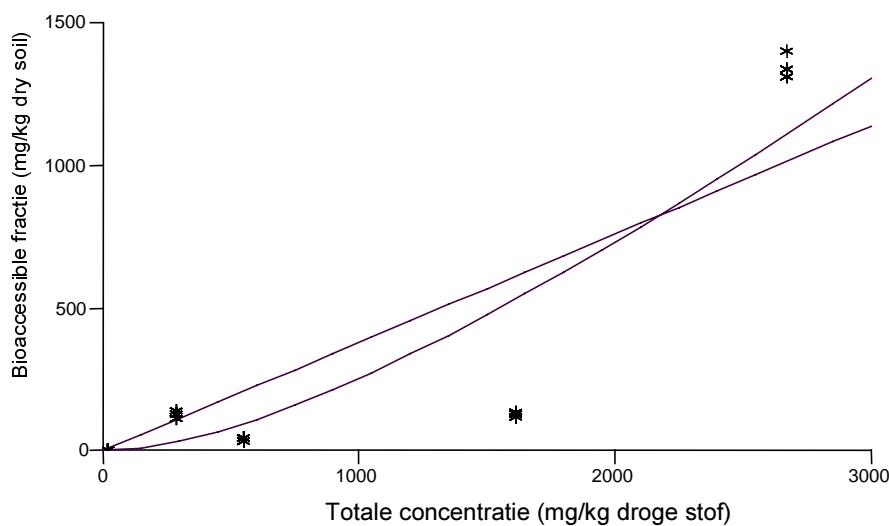
#### Knelpunten

Geen

## 4.2 Mathematisch model

In eerste instantie was het de bedoeling de verkregen bioaccessibility data te analyseren middels statistische analyse en op deze manier te bepalen welke factoren bepalend zijn voor de bioaccessibility (zie paragraaf 3.2). Vervolgens zou er met deze gegevens een mathematisch model worden opgezet. In een vroeg stadium bleek echter al dat er een niet-lineair verband was tussen contaminatieniveau en bioaccessibility en dat er een niet-homogene variatie in de verschillende datasets zat. Dit hield in dat conventionele statistische analyse van de data sets niet mogelijk was.

Vervolgens is op basis van de reeds verworven data aangaande bioaccessibility van lood en benzo[a]pyreen uit verschillende typen bodems een eerste aanzet gemaakt voor een mathematisch model. Uitgangspunt is een theoretisch model waarbij de interactie tussen bodemdeeltjes en contaminant in digestiesap beschreven wordt door de Gaponvergelijking voor metalen en de Scatchardvergelijking voor organische stoffen. Het mathematisch model beschrijft op basis van theorie de interactie tussen bodemdeeltjes en contaminant waarbij rekening wordt gehouden met bodemtype, speciatie en de relatie tussen contaminatie-niveau en bioaccessibility.



*Figure 4.1 Voorbeeld van de analyse van de relatie tussen het contaminatieniveau van lood-nitraat (x-as) en de bioaccessible fraction (y-as). Een lineaire en een niet-lineaire (Gapon) vergelijking leidt tot nauwelijks betere beschrijving van de data (waarde voor de log-likelihood: lineair: -105; non-lineair: -107).*

Het mathematisch model laat zien dat de data sets even goed beschreven kunnen worden met een lineaire vergelijking als met een niet-lineaire vergelijking. In figuur 4.1 (lood) en 4.2 (benzo(a)pyreen) is een voorbeeld getoond voor zowel een lineaire als een niet-lineaire beschrijving van de data voor een bodem. Uit deze figuur blijkt dat er geen duidelijke voorkeur is voor een van beide vergelijkingen bij deze bodem. Bovendien laten niet alle data sets van alle bodem een duidelijke voorkeur zien voor één bepaalde vergelijking, wat impliceert dat de beschikbare data niet toestaan om een definitieve conclusie te trekken over de relatie tussen het contaminatieniveau en de bioaccessibility en over de toepasbaarheid van de gebruikte theorie (Gaponvergelijking en Scatchardvergelijking) (Sips *et al.*, 2001).

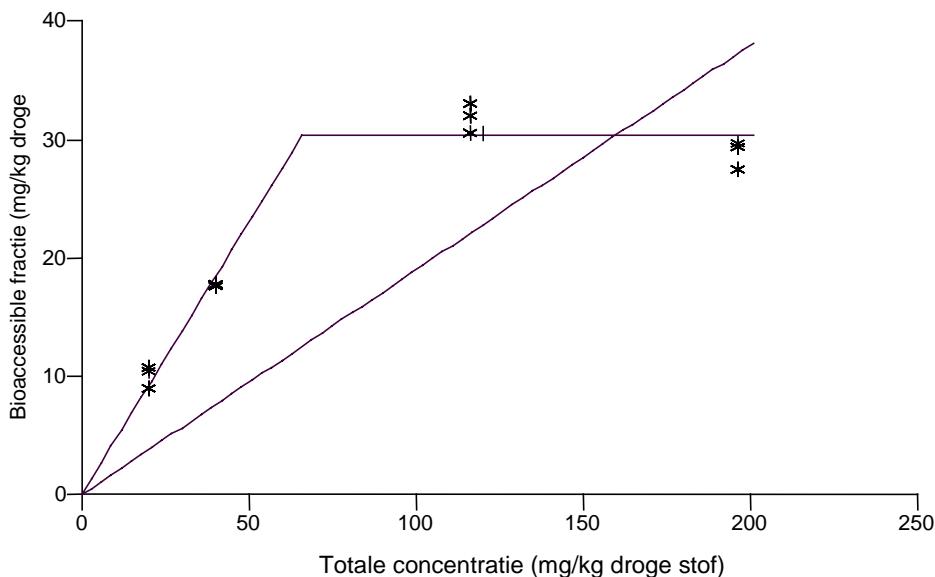


Figure 4.2 Voorbeeld van de analyse van de relatie tussen het contaminatieniveau van benzo[a]pyreen (x-as) en de bioaccessible fraction (y-as). Een lineaire en een niet-lineaire (Scatchard) vergelijking beschrijven de data exact even goed.

Conclusie Het mathematisch model, voor zowel lood als voor B(a)P, is nog niet geschikt om bioaccessibility in een willekeurige bodem te kunnen schatten. Er zijn betere data sets nodig om de relatie tussen contaminatieniveau en bioaccessibility te kunnen beschrijven.

#### Knelpunten

Door de te grote spreiding in de data is het niet mogelijk nauwkeurige schattingen te maken met het mathematisch model. Dit zou mogelijk opgelost kunnen worden door op meer niveaus te meten. Dit is verder uitgewerkt in de nieuwe proefopzet (zie paragraaf 6.3).

### 4.3 Relatieve F voor lood

Op basis van voorlopige bioaccessibilitydata van lood uit bodem is de relatieve biobeschikbaarheid van lood bepaald. Deze factor is gebruikt bij de herziening van de interventiewaarde van lood, uitgevoerd in 1999 (Lijzen *et al.*, 1999). In deze berekening is de  $F_a = 0.45$  genomen (literatuur gegevens) en  $F_b = 0.59$  (90 percentiel uit data praktijkmonsters TAUW) en  $F_h = 1$  (geen metabolisme). Dit leidt tot:  $F_{grond} = F_a \times F_b \times F_h = 0.45 \times 0.59 \times 1 \times 100\% = 27\%$ . Op basis van deze resultaten naar de biobeschikbaarheid van lood uit grond is een voorlopige relatieve biobeschikbaarheidsfactor voor grond van 0,6 (relatieve  $F = F_{grond}/F_{MTRlood'91} = 27\%/45\% = 0.6$ ) voorgesteld. Deze factor is tevens opgenomen in de eindrapportage van de technisch-wetenschappelijke evaluatie van de Interventiewaarden voor bodem/sediment en grondwater (Lijzen *et al.*, 2001).

Bovenstaande relatieve biobeschikbaarheidsfactor voor lood komt zeer goed overeen met de relatieve biobeschikbaarheidsfactor die voor blootstellingsmodellering voor lood in bodem wordt gehanteerd door de US EPA. US EPA veronderstelt dat de absolute biobeschikbaarheid van lood uit grond voor kinderen 30% is (vergelijk  $F_{grond}$ ) en dat de absolute

biobeschikbaarheid van lood uit de voeding en water 50% (vergelijk met  $F_{MTR\text{lood}^{'91}}$ ) is. De relatieve biobeschikbaarheidsfactor (door US EPA relatieve absorptiefactor (RAF) genoemd) bedraagt in dit geval eveneens 0,6 (30%/50%).

## 4.4 Werkzaamheden op internationaal niveau

Internationaal zijn diverse samenwerkingsverbanden ontstaan waarin aandacht wordt besteed aan het onderzoek naar bioaccessibility en orale biobeschikbaarheid van contaminanten in bodem. In Europees verband zijn dit BARGE en ISO. BARGE (Bioavailability Research Group Europe) heeft als doelstellingen:

1. richtlijnen opstellen voor het gebruik van bioaccessibility bij risicoschatting,
2. het bepalen van realistische relatieve biobeschikbaarheidsfactoren voor contaminanten in bodem,
3. nagaan hoe belangrijk relatieve biobeschikbaarheidsfactoren zijn voor de humane risicoschatting.

BARGE is opgericht in 1999. Het RIVM levert hieraan een actieve bijdrage. Op experimenteel vlak is inmiddels een ringstudie uitgevoerd waarbij van een aantal gecontamineerde bodems de bioaccessibility van arseen, lood en cadmium is bepaald in vijf verschillende *in vitro* digestiemodellen (Oomen *et al.*, submitted). De activiteiten op beleidsmatig vlak zijn nog niet gestart. Op voorwaarde dat de financiering van deze werkgroep geregeld kan worden, zal gestart worden met het vervolgonderzoek zoals beschreven in het projectplan opgenomen in bijlage 1.

De werkgroep in ISO-verband (*Expert in ISO/TC 190/SC 7 WG/4 “Characterization of soil with respect to human exposure”*) bestaat sinds 2000 en heeft als doelstelling om op basis van internationale consensus (in principe wereldwijd) tot een beschrijving van een *in vitro* testsysteem (physiologically based extraction method) voor het schatten van de orale biobeschikbaarheid van metalen in gecontamineerde grond te komen en advies te geven over het juiste gebruik van een dergelijke testsysteem. Binnen deze werkgroep worden nog geen experimenten uitgevoerd. Momenteel wordt gewerkt aan een methodiekvergelijking op basis van beschikbare data/literatuur en het raadplegen van experts. Op beleidsmatig vlak zijn (nog) geen acties ondernomen.

In de USA is in 1997 “the Solubility/Bioavailability Research Consortium” (SBRC) opgericht met als doel het ontwikkelen en valideren van *in vitro* methodes voor het schatten van de relatieve biobeschikbaarheid van metalen in gecontamineerde bodems. In eerste instantie wordt gekeken naar lood: het initiële doel is het ontwikkelen van een *in vitro* digestiemodel (in de USA ook wel *in vitro* extraction test genoemd) dat correleert met *in vivo* metingen van relatieve biobeschikbaarheid van bodem in het “young swine model”. In de periode van 1989-1997 heeft EPA Region VIII een orale biobeschikbaarheid-assay in een “young swine model” ontwikkeld voor lood en arseen. In de USA is deze methode inmiddels geaccepteerd als standaard biobeschikbaarheidsmethode om locatie-specifiek de relatieve biobeschikbaarheid te bepalen waarna vastgesteld wordt hoeveel lood/arsen er op die specifieke locatie in de bodem mag zitten. In de toekomst wil men overstappen naar een *in vitro* digestiemodel omdat dit sneller en goedkoper is dan een *in vivo* studie. Ruby werkt sinds enkele jaren aan de ontwikkeling van een dergelijk *in vitro* digestiemodel en het vergelijken van dit model met het young swine model. Experimenten met lood en arseen zijn reeds uitgevoerd (Ruby *et al.*, 1999). Een protocol voor het bepalen van de bioaccessibility van dioxinen/furanen in bodem is in voorbereiding (persoonlijke mededeling). Agnes Oomen

onderhoudt namens het RIVM de contacten met Ruby (Exponent Group, Boulder) en Maddeloni (EPA, New York).



## 5. Conclusies en discussie over toepassing voor beleid

In het onderstaande zal in 5.1 de haalbaarheid van de methodieken (*in vitro* digestiemodel en mathematisch model) ter bepaling van  $F_{b_{grond}}$  worden besproken en in 5.2 de haalbaarheid van de toepassing van deze methodieken voor de beleidsvragen.

### 5.1 Haalbaarheid van de methodieken

Het is mogelijk om de  $F_{b_{grond}}$  te bepalen met behulp van het *in vitro* digestiemodel dat is opgezet. Momenteel kan de  $F_{b_{grond}}$  voor lood, arseen, cadmium, benzo(a)pyreen en benzo(a)anthraceen bepaald worden. Dit is reeds gedaan voor lood, arseen, cadmium en benzo(a)pyreen in verschillende artificieel gecontamineerde nederlandse bodemsoorten. Het moet echter nog blijken of het *in vitro* digestiemodel de *in vivo* situatie goed simuleert: een *in vivo* validatie zal zo spoedig mogelijk plaats moeten vinden.

Er is een eerste aanzet gemaakt voor een mathematisch model voor lood en benzo(a)pyreen. De bruikbaarheid van het mathematisch model is nog onduidelijk. Hiervoor zijn aanvullende experimenten nodig, waar op dit moment aan gewerkt wordt.

### 5.2 Haalbaarheid van de toepassing van de methodieken

#### 1) Is sanering op een specifieke locatie noodzakelijk op grond van de humane blootstelling (is er een actueel risico: ligt totale blootstelling boven MTR<sub>humaan</sub>?)?

##### *In vitro* digestiemodel

Het is zeer goed mogelijk om met behulp van het *in vitro* digestiemodel de  $F_{b_{grond}}$  van een praktijkmonster te bepalen. Dit is reeds uitgevoerd voor lood, arseen en cadmium uit verschillende bodemsoorten uit de praktijk. Hierbij dient opgemerkt te worden dat de *in vivo* validatie van het *in vitro* digestiemodel nog ontbreekt.

##### Lood

De  $F_{b_{grond}}$  van lood kan goed bepaald worden met behulp van het *in vitro* digestiemodel. Voor lood is het mogelijk om de relatieve F voor grond te bepalen omdat  $F_a (= 0.45)$  en  $F_h (= 1)$  bekend zijn uit de literatuur. Daarnaast is voor lood ook de  $F_{matrix\ tox\ studie}$  (0.45) bekend en met deze gegevens kan dus de relatieve F worden berekend.

##### Arseen, cadmium

De  $F_{b_{grond}}$  van arseen en cadmium kan ook bepaald worden m.b.v. het *in vitro* digestiemodel. Dit is reeds gedaan voor drie verschillende praktijkmonsters. De relatieve F kan berekend worden als de  $F_{matrix\ tox\ studie}$  bekend is en aangenomen wordt dat  $F_a$  en  $F_h$  constant zijn. De  $F_{b_{grond}}$  kan ook gebruikt worden om de  $F_{grond}$  voor arseen en cadmium te berekenen indien  $F_a$  en  $F_h$  bekend zijn. Vervolgens kan dan de relatieve F berekend worden indien de  $F_{matrix\ tox\ studie}$  bekend is.

##### Overige contaminanten

In principe is het mogelijk om van elke contaminant de  $F_{b_{grond}}$  te bepalen in het *in vitro* digestiemodel indien er een geschikte analysemethode bestaat voor deze contaminant. Per

contaminant dient dan te worden uitgezocht of  $F_a$  en  $F_h$  bekend zijn en of deze constant blijven in verschillende matrices. Daarnaast moet uitgezocht worden of  $F_{matrix\ tox\ studie}$  of  $F_{bmatrix\ tox\ studie}$  bekend zijn.

### **Mathematisch model**

Het is op dit moment nog niet mogelijk om voor een specifieke locatie m.b.v. het mathematisch model te voorspellen wat de relatieve biobeschikbaarheidsfactor is voor een bepaalde contaminant. De haalbaarheid van zo'n voorspellend model zal na de nieuw uit te voeren experimenten met lood moeten worden vastgesteld.

- 2) Kunnen interventiewaarden ( $SRC_{humaan}$ ) verbeterd worden door het vervangen van relatieve  $F = 1$  (d.w.z.  $F_{grond} = F_{matrix\ tox\ studie}$ ) door een contaminant-specifieke waarde voor relatieve  $F$ ? Indien ja, welke waarden voor relatieve  $F$  kunnen dan gebruikt worden?**

### ***In vitro* digestiemodel**

De toepassing van het *in vitro* digestiemodel lijkt van nut te zijn voor beantwoording van de tweede vraag. Op basis van de huidige resultaten voor lood en benzo(a)pyreen is het niet goed mogelijk om een generieke  $F_{b_{grond}}$  voor "de Nederlandse bodem" voor lood te bepalen, omdat de waarden te sterk lijken te verschillen per bodemsoort. Tevens vertonen de bioaccessibility data voor arseen en cadmium een te grote spreiding. Een mogelijke oorzaak hiervoor is de inhomogeniteit van de artificieel gecontamineerde bodem en dit zal nader onderzocht moeten worden. De mogelijke inhomogeniteit van de bodems wordt bevestigd door de lage spreiding in bioaccessibility van arseen en cadmium in de praktijkmonsters die gebruikt zijn in de ringstudie BARGE (zie tabel 4.3).

In een eerder stadium is op basis van voorlopige resultaten echter wel een generieke  $F_{b_{grond}}$  voor "de Nederlandse bodem" voor lood afgeleid op basis van de resultaten van de praktijkmonsters van TAUW. Deze resultaten zijn gebruikt voor herziening interventiewaarde lood (RIVM rapport Lijzen *et al.*, 1999). Hierbij is het 90-percentiel genomen van de bioaccessibility waarden die gevonden zijn in deze studie (mediaan: 44%; 90-percentiel: 59%). In recentere experimenten waarin praktijkmonsters zijn getest (Bergen op Zoom en ringstudie BARGE) lagen de bioaccessibility waarden onder de 59%. Op basis van de resultaten van de praktijkmonsters van TAUW is een *voorlopige* relatieve  $F$  voor grond vastgesteld van 0.6. Ondanks de beperkte hoeveelheid data komt deze relatieve  $F$  zeer goed overeen met de relatieve  $F$  van 0.6, die voor blootstellingsmodellering voor lood in bodem wordt gehanteerd door de US EPA.

### **Mathematisch model**

De eerste resultaten tonen aan dat het niet mogelijk is om een generieke  $F_{b_{grond}}$  voor "de Nederlandse bodem" te bepalen. Wellicht is het wel mogelijk om een factorspecifieke  $F_{b_{grond}}$  te bepalen. Dit zou verder onderzocht moeten worden, maar hiervoor zijn meer experimenten nodig.

## 6. Hoe verder?

In de onderstaande paragrafen wordt uiteengezet hoe het verdere verloop van het deelproject er uitziet. Op een aantal punten is het verdere verloop afhankelijk van de wensen van opdrachtgever. Deze punten worden aangegeven in de verschillende paragrafen en dienen op korte termijn besproken te worden met de opdrachtgever zodat het duidelijk wordt welk vervolgtraject er ingezet kan worden.

### 6.1 *In vitro* digestiemodel

#### 6.1.1 Herziene prioriteitenlijst contaminanten

Aan de hand van het rapport 711701023 (Lijzen *et al.*, 2001) is onderstaande lijst opgesteld van contaminanten waarvoor geldt dat > 50 % van de inname plaatsvindt via ingestie van grond. In overleg met de opdrachtgever zullen uit deze lijst een aantal contaminanten geselecteerd worden. Voor de geselecteerde contaminanten zal de relatieve F bepaald worden.

Contaminant	% via ingestie van grond
Arseen	71
Barium	57
Chromium (III)	67
Chromium (IV)	67
Lood	69
Anthracene	78
Benzo(a)anthracene	74
Benzo(k)fluoranthene	78
Benzo(a)pyrene	68
Chrysene	79
Phenanthrene	71
Fluoranthene	74
Ideno, 1,2,3-cd pyrene	77
Benzo(ghy)perylene	79
Pyrene	78
Acenaphtene	77
Benzo(b)fluoranthene	67
Benzo(j)fluoranthene	68
9-H-Fluorene	69
Acenaphthylene	63
Maneb	78
Butylbenzylphthalate	72
Disodecyl phthalate (DIDP)	67
Dibutyl phthalate (DBP)	53
Aliphatic >EC12-EC16	53
Aliphatic >EC16-EC21	71
Aliphatic >EC21-EC35	79

#### 6.1.2 Optimalisatie en binnen- en tussendagvariatie

Uit tabel 4.1 en 4.2 blijkt dat een aantal experimenten nog niet zijn uitgevoerd. De contaminanten B(a)A en DDE/DDT zijn nog niet getest in de verschillende Nederlandse

bodemsoorten. Dit is voor DDE/DDT ook niet mogelijk, aangezien er geen geschikte analysemethode is. Voor B(a)A is het in principe wel mogelijk.

De bioaccessibility data voor arseen en cadmium in verschillende Nederlandse bodemsoorten waren niet betrouwbaar en deze experimenten zouden herhaald moeten worden om geschikte data te verkrijgen. Een knelpunt hierbij is dat de kippengal die in eerdere experimenten is gebruikt niet meer te verkrijgen is. Hierdoor is het niet mogelijk om de experimenten die tot nu toe zijn uitgevoerd direct te vergelijken met eventueel nieuwe experimenten, waarbij gebruik gemaakt wordt van rundergal.

Aangezien de uitvoering van deze experimenten veel tijd zal kosten, zal door de opdrachtgever aangegeven moeten worden welke prioritering gewenst is.

### **6.1.3 Methodiekvergelijking**

Het ligt in de bedoeling om binnen BARGE in de komende jaren diepgaander onderzoek te verrichten naar de verschillen tussen de gebruikte *in vitro* digestiemodellen, teneinde inzicht te verwerven in componenten die bepalend zijn voor de bioaccessibility van een stof uit bodem. Tevens zal getracht worden de verschillende digestiesystemen te valideren met *in vivo* gegevens. Dit onderzoek kan alleen worden uitgevoerd indien financiering voor BARGE gerealiseerd wordt (zie ook 6.4).

### **6.1.4 Praktijkmonsters**

De opdrachtgever heeft aangegeven dat er voor meer praktijkmonsters (met name bodems die lood benzo(a)pyreen bevatten) de locatiespecifieke  $F_{grond}$  bepaald moet worden. Afhankelijk van de beschikbaarheid van praktijkmonsters zullen er meer praktijkmonsters in het *in vitro* digestiemodel gemeten worden. Er dient nog afgesproken te worden in welke range het contaminatieniveau van deze monsters dient te liggen.

### **6.1.5 In vivo validatie**

Zoals reeds vermeld in paragraag 4.1.5 is het mogelijk om bodemonsters te gebruiken waarvan humane *in vivo* data bekend zijn. Deze monsters zullen in het *in vitro* digestiemodel getest worden en de data voor bioaccessibility die hieruit verkregen worden, zullen worden vergeleken met de *in vivo* data.

### **6.1.6 In vitro digestiemodel voor gevoede omstandigheden**

Nu wordt een *in vitro* digestiemodel gebruikt dat de fysiologische condities in het maagdarmkanaal van een kind onder nuchtere omstandigheden nabootst. Dit is de worst case situatie (=hoogste bioaccessibility) voor lood. Voor andere contaminanten zoals B(a)P wordt de worst case situatie echter bereikt onder gevoede omstandigheden. Het *in vitro* digestiemodel met voeding zal verder ontwikkeld worden indien blijkt dat er bij de geselecteerde contaminanten (zie 6.1.1), contaminanten zitten waarvoor dit model de worst case situatie zal zijn.

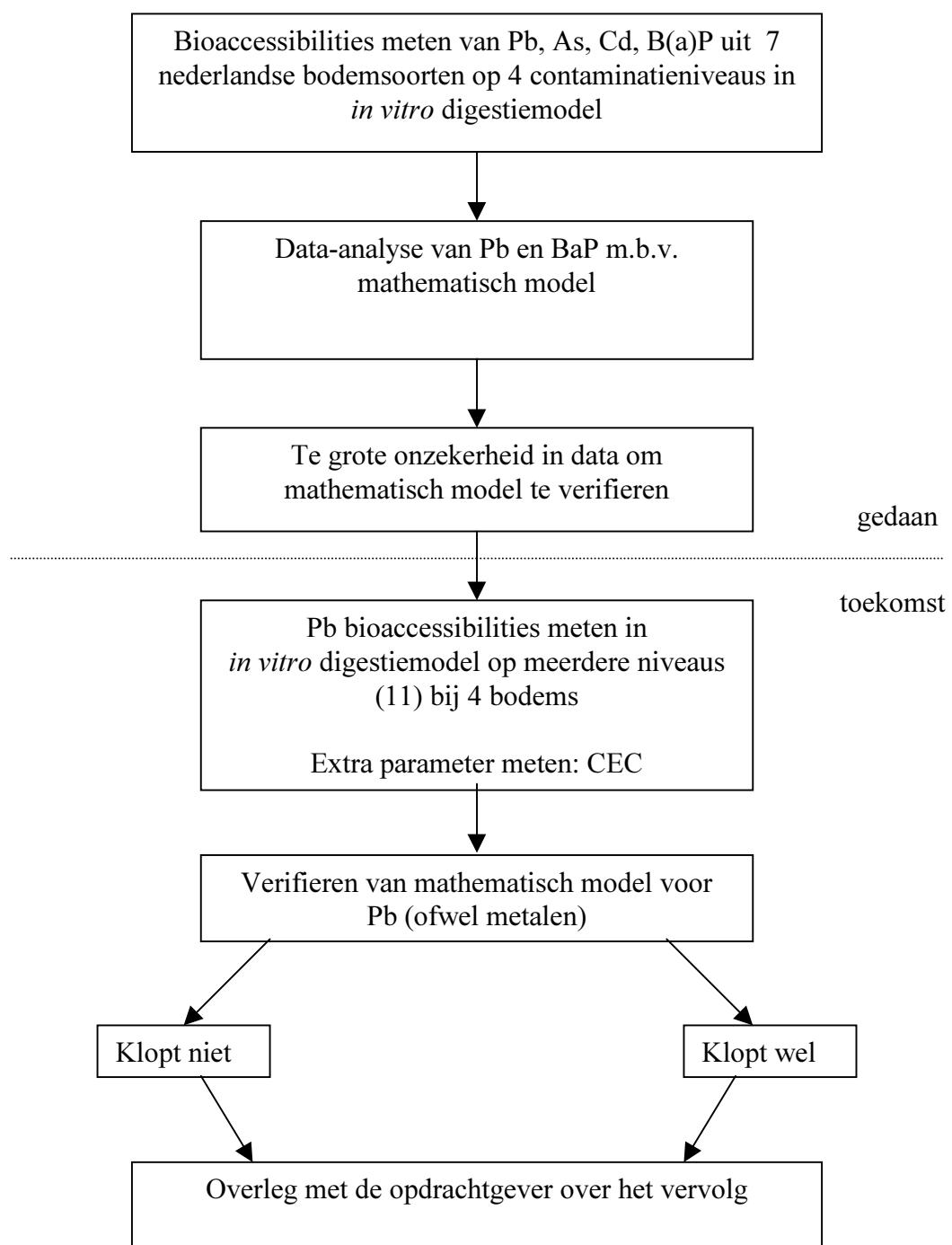
## **6.2 Methodiek ter bepaling van $F_{bmatrix\ toxstudie}$ ?**

Na selectie van contaminanten waarvoor de relatieve  $F$  bepaald moet worden (zie 6.1.1.) zal per contaminant worden nagegaan of het nodig is om  $F_{bmatrix\ toxstudie}$  experimenteel te bepalen (zie 3.1). Indien nodig, zal nagegaan worden welke matrices gebruikt zijn in de toxiciteitsstudie die ten grondslag liggen aan de  $MTR_{humaan}$ . De  $F_{bmatrix\ toxstudie}$  kan vervolgens

bepaald worden in het *in vitro* digestiemodel. Hierbij moet nog bekijken worden of het *in vitro* digestiemodel aanpassing behoeft voor het testen van deze matrix.

### 6.3 Mathematisch model

Met de bioaccessibility data verkregen met huidige proefopzet bleek het niet mogelijk te zijn om een goede data analyse te doen met het mathematisch model. De spreiding in de data was te groot. Vervolgens is gekozen voor een nieuwe proefopzet waarin 4 bodemsoorten worden gecontamineerd met loodnitraat op 11 niveaus. Daarnaast zal er ook nog een extra bodemparameter, de cation exchange capacity (CEC), experimenteel worden bepaald. Met deze datasets zal gekeken worden of het mathematisch model inderdaad een goede beschrijving is van de relatie tussen contaminatieniveau en bioaccessibility. Er zal dan besloten worden wat de haalbaarheid is van een mathematisch model.



## Dankbetuiging

De auteurs bedanken dhr P. Otte en ir. J. Lijzen voor hun advies betreffende de risicoschatting bodem en het humane blootstelingsmodel CSOIL.

## Literatuur

Berg R. van den. Blootstelling van de mens aan bodemverontreiniging. Een kwalitatieve en kwantitatieve analyse, leidend tot voorstellen voor humaan toxicologische C-toetsingswaarden, RIVM-rapport 725201006: RIVM Bilthoven, 1995.

Casteel S.W., Cowart R.P., Weis C.P., Henningsen G.M., Hoffman E., Brattin W.J., Guzman R.E., Starost M.F., Payne J.T., Stockham S.L., Becker S.V., Drexler J.W., Turk J.R. Bioavailability of lead to juvenile swine dosed with soil from the smuggler mountain NPL site of Aspen, Colorado. Fundam. Applied Toxicol., 36, 177-187, 1997

Koolenbrander J.G.M. TAUW Milieu bv. Urgentie van bodemsanering. De handleiding. Sdu Uitgeverij Koninginnegracht Den Haag, 1995.

LaVelle J.M., Poppenga R.H., Thacker B.J., Giesy J.P., Weis C., Othoudt R., Vandervoort C. Bioavailability of lead in mining wastes: An oral intubation study in young swine. Chemical Speciation and Bioavailability, 3, 105-111, 1991.

Lijzen J.P.A., Baars A.J., Crommentijn T., Otte P.F., van de Plassche E., Rikken M.G.J., Rompelberg C.J.M., Sips A.J.A.M., Swartjes F.A. Herziening interventiewaarde lood. Evaluatie van de afleiding van de interventiewaarde grond/sediment en grondwater, RIVM rapport 711701013: RIVM Bilthoven, 1999.

Lijzen J.P.A., Baars A.J., Otte P.F., Rikken M.G.J., Swartjes F.A., Verbruggen E.M.J., van Wezel A.P. Technical evaluation of the Intervention Values for Soil/sediment and Groundwater. Human and ecotoxicological risk assessment and derivation of risk limits for soil, aquatic sediment and groundwater. RIVM report 711701023: RIVM Bilthoven, 2001.

Oomen A.G., Hack A., Minekus M., Zeijdner E., Cornelis C., Schoeters G., Verstraete W., Van de Wiele T., Wragg J., Rompelberg C.J.M., Sips A.J.A.M., Van Wijnen J. Comparison of five *in vitro* digestion models: to study bioaccessibility of soil contaminants, submitted

Rotard W., Christmann W., Knoth W., Mailahn W. Bestimmung der resorptionsverfügbarer PCDD/PCDF aus Kieselrot. UWSF-Z. Umweltchem. Ökotox. 7(1): 3-9, (1995).

Ruby M.V., Schoof R., Brattin W., Goldade M., Post G., Harnois M., Mosby D.E., Casteel S.W., Berti W., Carpenter M., Edwards D., Cragin D., Chappel W. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment. Environmental Science and Toxicology, 33, 3697-3705, 1999.

Sips A.J.A.M., Bruil M.A., Dobbe C.J.G., van de Kamp E., Oomen A.G., Pereboom

D.P.K.H., Rompelberg C.J.M., Zeilmaker M.J. Bioaccessibility of contaminants from ingested soil in humans. Method development and research on the bioaccessibility of lead and benzo[a]pyrene, RIVM report 711701012: RIVM Bilthoven, 2001.

## Bijlage 1 Projectplan BARGE



Final version, 1-6-2001

## Abstract

*The project “**BARGE 2001-2004**” aims to determine realistic **relative bioavailability factors for contaminants in soil for use in risk assessment (relative with respect to contaminants ingested in toxicity studies, mostly with food or in solution)**, through European research co-operation. At the start of the project the focus is on optimising, validating and linking methods for the determination of relative bioavailability factors.*

*For risk assessments realistic relative bioavailability factors for human soil ingestion are much demanded.. Co-ordination of international research will enhance the knowledge on this topic, bring it to a higher level and probably reduce the communal costs.*

*The underlying research is carried out by experts, united in the “Bioavailability Research Group Europe” (BARGE). The project is recommended by the CLARINET<sup>1</sup> (Contaminated Land Rehabilitation Network for Environmental Technologies) network. From other stakeholders there is also a lot of interest. The BARGE initiative is unique in its field.*

*Further information:*

See the BARGE web pages for further information ([www.schelwald.nl/pages/barge](http://www.schelwald.nl/pages/barge)).

---

<sup>1</sup> CLARINET (Contaminated Land Rehabilitation Network for Environmental Technologies) is a Concerted Action within the Environment & Climate Programme of the European Commission DG Research, and is co-ordinated by the Austrian Environment Agency. This network is an important EU-initiative for knowledge transfer. It will end in June 2001.

## General Introduction

*Along history, human activities have had serious impacts on the soil environment. In particular industrial activities have created derelict land or brownfields in urban and rural areas. Polluted soil in so-called brownfield areas, if not already a serious ecological and human health risk, will become an important risk if brownfields are redeveloped into residential areas, where small children can be exposed to soil. In view of the unfeasibility (technical and financial) of total clean up of these areas and the environmental impact of clean up technologies, most countries addressing this problem rely on risk assessment and risk management to derive clean up goals or to decide whether soils are fit for their current or intended use.*

The main human health risks resulting from living on contaminated or partially decontaminated land come from three sources of exposure: inhalation of volatile substances, consumption of vegetables grown in the contaminated area and ingestion of soil, the latter especially by small children. Numerous studies have shown that children can ingest up to 150 mg of soil as a daily average via hand-to-mouth behaviour.

Hence, soil ingestion is in most cases the dominant exposure route for immobile contaminants in soil. It is assumed that contaminants ingested from soil are extracted in the digestive tract to the same extent as contaminants present in toxicity studies, on which risk assessment is based. In these toxicity studies typically food or liquid matrices are used. However, it is widely believed (and experimentally shown) that most contaminants ingested in a soil matrix can be less bioaccessible (i.e. mobilised from soil in the gastro-intestinal tract), and thus less bioavailable, than those in the studies used to derive tolerable daily intakes.

However, it is widely believed (and experimentally shown) that most contaminants ingested in a soil matrix can be less bioaccessible (i.e. mobilised from soil in the gastro-intestinal tract), and thus less bioavailable, than those in the studies used to derive tolerable daily intakes.

It then becomes important to have some method to assess the bioaccessibility of ingested soil compared to the bioavailability of the same substances in food.

This relative bioavailability factor can have high impact on soil clean-up values, soil management and policy on risk assessment in general. It could also greatly reduce the costs of dealing with contaminated sites in all CLARINET countries. R&D co-operation between experts working on this topic seems an efficient way to enhance the knowledge in this field within the next few years.

## Status quo research

In December 1999 the need for co-operation and/or exchange of data was investigated. The need for co-operation appeared to be strong, and a great enthusiasm to exchange knowledge between disciplines and between countries was evident. Even before the study made its final report, a workshop had been organised.

The participants agreed to compare and validate current test systems by using identical soil samples in a round-robin experimental set-up. They decided to continue with this collaboration and so BARGE was established. All results until this point have been concluded in the final report of the feasibility study, "Human bioavailability of contaminants in ingested soil: A. Feasibility study on R&D co-operation; B. Set up and first results of collaborative R&D"(VROM/TCB), June 2000.

The round-robin experiments mentioned above have been conducted during summer 2000. In a meeting in September 2000 at VITO (Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek)/ Belgium the preliminary results of the experiments have been discussed and a number of research questions have been defined. The first test results revealed a diversity in bioaccessibility for similar soil

samples, strengthening the need for greater understanding of the driving forces behind these differences. It had also been decided to organise regular workshops to discuss the scientific aspects and details of continuation.

## Objectives

The objective of this project plan is:

- (1) to give guidance to the use of bioaccessibility in risk assessment;
- (2) to determine realistic relative bioavailability factors for soil contaminants and
- (3) to study the importance of relative bioavailability for health risk assessment.

At the start of the project the focus is on optimising, validating and linking methods for the determination of relative bioavailability factors.

The first focus is on priority contaminants such as heavy metals and organic polluters such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH).

## Motivation

*In view of public concern about levels of lead, PAH and arsenic (the most critical substances with regard to the ingestion pathway) development of a scientifically approved and internationally endorsed method for human health risk assessment is very urgent.*

*The urgency was already concluded by the CARACAS<sup>2</sup> concerted action and taken one step further by the CLARINET concerted action by stimulating the formation of the BARGE network.*

*CLARINET will end in June 2001, and so will their support for the BARGE network. To continue the work (financial) support is required for the co-ordination of the international co-operation in this field. Research will probably be funded by national funds, but the international dimension added is important in view of international acceptance by authorities and the general public.*

*From the EU perspective the innovation of this project lies in the co-ordination and harmonisation of national approaches based on non EU funding of the research itself. From policy view there is a great need for answering the questions.*

## Organization and time table

The organisation of activities consists of two closely related programmes. Both programmes will take place during the period 2001-2004. Some preceding actions have taken place in 2000.

The future planning in relation to BARGE consists of the following elements:

- Scientific Programme

*During this programme the different experimental set-ups mentioned in section 2 will be tested, validated and compared. It will produce facts and factors to be implemented into a policy framework, during the linked Policy Programme. Also a validation programme with in vivo-experiments is planned.*

- Policy Programme

*This programme can be characterised by the keywords, exchange of knowledge and pooling of knowledge and expertise. The needed input of policy makers gives it its*

<sup>2</sup> Concerted Action on Risk Assessment for Contaminated Sites in the European Union (CARACAS). This programme started in February 1996 and was funded by the European Commission under the Environment and Climate Programme, and co-ordinated by the German Umweltbundesamt. One of the results of CARACAS was the forming of CLARINET (see above).

*tittle “policy programme”. This programme will interact with the Scientific Programme.*

## Organization

### Ad A: Scientific Programme

The Scientific Programme consist of a definition phase followed by several actions, see below. The definition phase, the phase of model description and the phase of factorial design have started in 2000 and will be finished in the middle of 2001. The phase of validation and experimentation will take place from 2002 till 2004.

- **Definition phase.** This phase will consist of the following activities: compilation of a list of definitions, summarisation of the project history, description of the exact policy needs concerning bioavailability factors in risk management.
- **Description of models.** During this phase the existing experimental set-ups (in vitro gastrointestinal models) will be listed. Their differences as well as the consequences for bioavailability will be described. In combination with results of the round robin, conclusions will be drawn.
- **Validation.** Validation to in vivo will be performed for lead in soil in collaboration with Dr. Michael Ruby (Exponent group, USA).
- **Further testing/factorial design.** The differences in bioaccessibility due to the experimental set-ups will be analysed further during the phase of factorial design. An input/output protocol will be defined. Another action during this phase will be the selection of the most important influencing factors as well as selection of soils and contaminants (or mixtures) to be used as standards. At the end of this phase actual experiments are planned.
- **Summary.** Results of the experiments will be discussed and form the basic elements of a possible policy framework. These elements will later be described in more detail.

### Ad B. Policy Programme

Main focus for this programme is to interact with and describe goals and needs for the scientific working programme. Translation of policy questions and decision making takes place in this programme. The final results will be summarised in statements and (if possible) in a policy framework.

## Time table

### **First phase: start-up**

In the first year of this initiative four meetings have been held by the group “science”. For the group “policy” elements have been discussed at the CLARINET-meetings. These efforts have resulted in the definition of the underlying initiative.

### *Second phase (middle experimental phase)*

For the group “science” workshops are scheduled. To establish regular contacts between the different laboratories and instances telephone meetings are planned. For the group “policy” two sessions are scheduled. These sessions will be attributed to the implementation of the bioavailability factors into policy structures. The results of the meetings will be submitted to the group “science”. In addition telephone meetings are planned.

*The science group focuses on further testing in the round-robin. Also the in vitro – in vivo validation is on the agenda. All experiments are based on a methodological setup through a factorial design session.*

### **Third phase**

During the third phase two workshops BARGE and two telephone meetings are planned for the group “science”. For the group “policy” telephone meetings and one workshop on implementation are scheduled.

### **Final phase**

In the last phase the scientific results of the related bioavailability programme it is planned to implement all results and findings in a policy framework, in draft version first. The groups “science” and “policy” work together in this phase. A meeting, a telephone meeting and a final workshop (ca. 45-60 persons) will be organised. To compose the definite version of the policy framework in the second half of this year another meeting and telephone meeting are scheduled. During the last month of the programme there will be a moment of evaluation (referred to as an evaluation dip-stick). At that moment the use of the new policy framework, with realistic bioavailability factors, in practice will be observed.

## **Costs**

On the basis of the first year’s experiences, a total budget is needed of about 320.000 Euro, covering the activities to be carried out under the Action. This estimate is valid under the assumption that all the countries mentioned above but no other countries will participate in the action. Any departure from this will change the total cost accordingly.

## **Deliverables**

A major goal for the next years is to arrive at a cost-effective assessment method to estimate human bioavailability for the priority contaminants lead, cadmium and arsenic (eventually PAH is considered as well). These results, possibly in a form of a policy framework, will be disseminated throughout the European participants and their national policy makers. This (draft) framework is intended to provide policy guidelines on how to assess bioavailability in risk assessment practice.

To meet this goal a number of activities are foreseen:

1. A meeting (early 2001) with all sponsors and research participants with the aim of defining the most important policy issues regarding bioavailability and resulting research questions.
2. In-depth comparison and validation of the different national test methods available. This will include validation of the in vitro digestion models to in vivo, and research into the influence of variability between test parameters on test results, resulting in a proposal of which method to use in what circumstances; this may lead to one (or more) commonly accepted method(s).
3. Estimation of bioavailability for a number of selected soils from “real life” case studies in different EU-countries.
4. Regular meetings with research participants to discuss progress and exchange information.
5. A final workshop in early 2003 with all sponsors to discuss the findings.

The results will be disseminated through a website, newsletters and via the personal networks of the members of the BARGE project. The website will be updated twice a year within the term of the programme. By the end of the programme a final workshop will be organised, with a secondary goal the dissemination of the results of the project. The results will be used for publication (scientific journals and policy fora).

More information can be found at the BARGE web pages ([www.schelwald.nl/pages/barge](http://www.schelwald.nl/pages/barge)).

## Bijlage 2 Verzendlijst

- 1-6 Directeur DGM/BWL, Drs. J.A. Suurland  
7 Directoraat-Generaal Milieubeheer, Directie Bodem, Water en Landelijk gebied, Afd.  
Landelijk gebied: Dr. J.M. Roels  
8 Mr. G.J.R. Wolters, Hoofdinspectie van de Volksgezondheid voor de Milieuhygiëne  
9-13 Regionale Inspecties van de Volksgezondheid voor de Milieuhygiëne  
14 Mr. drs. A. Gravesteijn (DGM/BWL)  
15 Drs. N.H.S.M. de Wit (DGM/BWL)  
16 Dr. Ir. A.E. Boekhold (DGM/BWL)  
17 Dr. T. Crommentuijn (DGM/BWL)  
18 Dr. J. Vegter (TCB)  
19 Prof. Ir. N.D. van Egmond, Directeur Milieu, RIVM  
20 Dr.ir. G. de Mik, Directeur sector stoffen en risico's, RIVM  
21 Dr. A.J. Baars, CSR-RIVM  
22 Dr. A.P. van Wezel, CSR-RIVM  
23 Drs. T.G. Vermeire, CSR-RIVM  
24 Drs. M.G.J. Rikken, CSR-RIVM  
25 Ir. J.P.A. Lijzen, LBG-RIVM  
26 P. Otte, LBG-RIVM  
27 Dr.ir. F.A. Swartjes, LBG-RIVM  
28 Dr. E. Lebret, LBM-RIVM  
29 Dr. A.J.A.M. Sips, LBM-RIVM  
30 Dr. C.H.M. Versantvoort. LBM-RIVM  
31 Dr. A.G. Oomen, LBM-RIVM  
32 Ing. M.R. Duits, LBM-RIVM  
33 Ing. E. van der Kamp LBM-RIVM  
34 D.P.K.H. Pereboom LBM-RIVM  
35 Ing. A.G. Wijnker LBM-RIVM  
36 Dr.Ir. M.J. Zeilmaker LBM-RIVMD  
37 Dr. M. ten Hove, TCB  
38 Dr. C. Cornelis, VITO, België  
41 Dr. G. Schoeters, VITO, België  
42 Dr. M. Minekus, TNO Voeding  
43 Dr. J. van Wijnen, GG&GD Amsterdam  
42 Dr. J.A. van Zorgen DGM/SAS  
43- 58 Onderzoeksbegeleidingsgroep Humaan  
59 P. Smit, Van Hall Instituut  
60 P. Römkens, Alterra  
61 E. Sneller, RIZA  
62-71 Werkgroep U I  
72 A. Sinke, TNO-MEP  
73 J. Tuinstra, Royal Haskoning  
74-75 Auteurs  
76-77 Archief LBM  
78 Depot Nederlandse Publikaties en Nederlandse Bibliografie  
79 SBD/Voorlichting & Public Relations  
80 Bureau Rapportenregistratie

81-90 Bureau Rapportenbeheer

91 Bibliotheek RIVM

92-120 Reserve exemplaren