Die konsep van biobeskikbaarheid en die neerlê van eenvormige standaarde vir toelaatbare chemiese kontaminante in die grond

AJ REINECKE & SA REINECKE
Departement Plant- en Dierkunde, Stellenbosch Universiteit, Privaat sak X1, Matieland 7602
ajr@sun.ac.za

UITTREKSEL
Grond is 'n besonder heterogene substraat en 'n matriks vir variërende ruimtelike en temporale gradiënte van pH, organiese koolstof, partikelgroottes, voginhoude asook biologiese faktore geassosieer met grondlewende organismes. Hierdie chemiese, fisiese sowel as biologiese faktore bepaal die biobeskikbaarheid van chemiese stowwe vir organismes wat in die grond lewe. Hierdie oorsig van onlangse literatuur oor die gebruik van die konsep van biobeskikbaarheid in die ekotoksikologie, lei tot die slotsom dat hierdie konsep dikwels ongekwalifiseerd en teenstrydig gebruik word omdat dit verskillende dinge vir verskillende outeurs beteken. 'n Heldere begrip van die konsep is van wesenlike belang vir die interpretasie van toksisiteitstoetse, omgewingsmonitering en risiko-assessering van omgewingskontaminante. Dit is ook nodig vir die stel van grondkwaliteitskriteria omdat kennis van die werklike blootstelling van organismes nodig is, en nie bloot van die totale hoeveelheid van die chemiese stof in die omgewing nie. Die doel van hierdie bydrae is om die konsep duidelik toe te lig ter wille van konsekwente en verantwoordbare aanwending daarvan. Afgesien van die definiëring of omskrywing van biobeskikbaarheid, word die probleme rondom die vergelykbaarheid van toksisiteitsgegewens tussen gronde en tussen spesies bespreek. Verder word die potensiële rol wat biomerkers in grondorganismes kan speel om biobeskikbaarheid te bepaal, aangeroer. In 'n poging om eenvormige kriteria of standaarde vir omgewingskwaliteit neer te lê, sal rekening gehou moet word met beide biotiese sowel as abiotiese eienskappe wat die biobeskikbaarheid van chemiese stowwe vir grondorganismes bepaal. Dit vereis dus 'n dinamiese benadering wat beide fisies-chemies gedrewe desorpsieprosesse en fisiologies gedrewe opnameprosesse, sowel as 'n verskeidenheid ander biologiese faktore, in ag moet neem. Die bevinding is dat biobeskikbaarheid kwalitatief geïnterpreteer moet word en dat die opnamekoers van 'n chemiese stof moontlik as maatstaf van biobeskikbaarheid kan dien. Die ontwikkeling van gestandaardiseerde protokolle vir blootstelling van geselekteerde spesies en meting van biologiese response met behulp van biomerkers kan risiko-assessering verfyn en 'n stap verder neem.

ABSTRACT
The concept of bioavailability and establishing uniform standards for permissible chemical contamination of soil
Soils are very heterogeneous substrates providing an environmental matrix with varying spatial and temporal gradients of pH, organic carbon, particle size distribution, moisture content as well as biological factors associated with soil organisms. These chemical, physical as well as biological factors determine the bioavailability of chemicals to soil-dwelling invertebrates. This review of recent literature on the use of the bioavailability concept in soil ecotoxicology indicates that the concept is often used unqualified and indiscriminately to mean different things to different authors. A clear understanding of the concept is crucial for toxicity testing, environmental monitoring, risk assessment and the setting of soil quality criteria since knowledge of the actual exposure of organisms, and not merely the total amount of the chemical, is required. The aim of this paper is to contribute towards a clarification of the concept. Apart from defining or describing bioavailability, the problems related to the comparability of toxicity data between soils and

species, inter-soil and inter-species comparisons of toxicity data are discussed. The potential role that biomarkers can play in assessing bioavailability, is touched upon. In an effort to prescribe uniform criteria or standards for environmental quality, both biotic and abiotic characteristics, which determine the bioavailablity of contaminants should be considered. This requires a dynamic approach which takes both uptake processes as well as a variety of other biological factors into consideration. It is concluded that bioavialiblity should be interpreted qualitatively and that the rate of uptake of a contaminant could possibly serve as a measure of bioavailability. The development of standardised protocols for exposure of selected species and the measurement of biological responses with the aid of biomarkers could serve to refine and take risk assessment a step further.

INLEIDING

Toenemende hoeveelhede chemikalieë word direk of indirek in die omgewing vrygestel as gevolg van die mens se vele industriële, huishoudelike en landboubedrywighede. Die feit dat dit ’n wêreldwye probleem is, het die hoop laat ontstaan dat daar internasionaal of selfs nasionaal konsensus bereik kan word oor wat as “veilige” of “toelaatbare” konsentrasies beskou kan word in gronde, water of in biota. Hoeveel storting van bepaalde stowwe in die omgewing is “aanvaarbaar” of enigsins toelaatbaar en by watter besoedelingskonsentrasies behoort skoonmaakoperasies uitgevoer te word? Die kompleksiteit en geweldige variasie in grondtipes is ’n verdere kompliserende faktor wat hierdie ekostelsel betref.

Die stel van sulke norme of standaarde word as van kardinale belang vir die beskerming van die biotiese omgewing en die mens gesien, maar is ’n onderwerp van hewige debat in internasionale kringe en in die ekotoksikologiese vakliteratuur. Die rede daarvoor is dat hierdie besluite belangrike implikasies het vir die bewaring van natuurlike biodiversiteit en menslike gesondheid en gevolglik ook vir ekonomiese aktiwiteite. Die debat word verder bemoeilik deur verskeie onsekerhede wat verhoed dat wetenskaplik verantwoordbare en polities verdedigbare besluite maklik geneem kan word. Die onsekerhede is geleë in die feit dat die omgewingsgevaar van ’n chemiese stof nie slegs afhanklik is van die stof se konsentrasie in die abiotiese omgewing nie[1, 2] maar ook op verskillende wyses beïnvloed word deur die fisiese en biotiese komponente van die omgewing. Die kompleksiteit, veranderlikheid en heterogeniteit van die omgewing verhoed dus ’n benadering wat ’n universele of generiese, vaste veiligheidsfaktor kan bepaal wat oral van toepassing sal wees. Konsentrasies wat as “aanvaarbaar” of selfs as “veilig” in een grondtipe beskou kan word, mag gevare inhou in ’n ander grondtipe. Die eenvoudige rede daarvoor is dat verskille in fisiese, chemiese en biologiese toestande kan veroorsaak dat die beskikbaarheid van die kontaminant vir opname deur lewende organismes verskillend sal wees in verskillende gronde. Terselfdertyd moet aanvaar word dat hierdie faktore dus ook die doeltreffende aanwending van chemiese stowwe vir die beheer van plaagorganismes in die grond sal beïnvloed.

Afgesien van verskille wat verband hou met die fisiese omgewing, sal verskille tussen spesies en opnameroetes deur organismes, ook die biobeskikbaarheid van ’n stof beïnvloed. Dit is dus moeilik om ’n klinkklare en duidelike verwantskap te bepaal tussen die aanwesige hoeveelheid stof (omgewingskonsentrasie) en die hoeveelheid van die stof wat beskikbaar is in ’n vorm wat deur die organisme opgeneem kan word. Dit is algemeen bekend dat die sogenaamde residensietyd van verbindings in gronde sowel as hulle chemiese vorm hulle beskikbaarheid vir opname deur organismes kan beïnvloed.[3] In die verlede is gepoog om “biobeskikbaarheid” van chemiese stowwe te bepaal deur byvoorbeeld chemiese ekstraksieprosedures te ontwikkel om die “biobeskikbaarheid” van chemiese stowwe wat in verouderde grond aanwesig is, te voorspel.[4] Pogings is ook aangewend om verminderde blootstelling as gevolg van veroudering (weens moontlike afbraak of binding) te voorspel. Hoewel bestuursbesluite oor grond en sedimente hoofsaaklik op chemiese analises berus[5] is dit bykans onmoontlik om die toenemende getal nuwe verbindings wat in die omgewing vrygelaat word aan analitiese monitering te onderwerp. Daarbenewens is die voorspelling van toksisiteit wat slegs op analitiese gegewens gebaseer is,

dikwels verkeerd.[6, 7] Omdat ons begrip van die struktuur en funksionering van ekostelsels nog so gebrekkig is, moet ons dikwels waarde-oordele fel wat op die oog af logies en redelik lyk, maar wat nie altyd op betroubare wetenskaplike gegewens berus nie.

Een manier om hierdie probleme aan te spreek, is om die resultate van verskeie chemiese en fisiese metodes vir die berekening van ekstraheerbaarheid van verbindings uit gronde te vergelyk en te korreleer met die response van organismes op hierdie verbindings.[8]

Aangesien die toksisiteit van ’n kontaminant in die bodem so sterk beïnvloed word deur die fisies-chemiese eienskappe van die grond deurdat dit die biobeskikbaarheid beïnvloed, is baie aandag aan hierdie fisies-chemiese faktore gegee. Minder aandag is egter tot dusver gegee aan die biologiese veranderlikes. Die aanvulling van chemiese gegewens met ’n battery van biologiese toetse het wel toenemend gewild geraak in Nederland, Duitsland en verskeie ander ontwikkelde lande, maar word steeds as van geringe belang geag in bestuursbeplanning.[7] Verwaarlosing van die biologiese sy van die biobeskikbaarheidskonsep mag ook in sommige gevalle ’n groot ekonomiese flater wees aangesien die skoonmaak van gekontamineerde plekke baie duur is. Buitendien sal besluite wat slegs op chemiese gegewens gebaseer is, kan lei tot onnodige oorbeskerming,[9] wat ook weer ekonomiese implikasies het.

’n Duidelike en omvattende begrip van biologiese prosesse en biologiese response met betrekking tot biobeskikbaarheid van stowwe sal uiteindelik meer kostebesparend kan wees as wat tans besef word omdat die aanwesigheid van relatief hoë vlakke van besoedelstowwe nie noodwendig tot remediëring hoef te lei indien dit min risiko inhou nie. Dit sal ook belangrik wees vir die landbousektore waar die bestuur van bespuitingsprogramme vir die volhoubare benutting van gronde, sowel as die kostedoeltreffende gebruik van chemiese middels, noodsaaklik is. Die ekologiese risiko sowel as die omgewingsrisiko van besoedelstowwe vir menslike gesondheid is ten nouste gekoppel aan hulle biobeskikbaarheid.[10] ’n Meer volledige begrip van die biobeskikbaarheid van omgewingskontaminante is gevolglik belangrik, maar die bestaande wetenskaplike basis vir die doeltreffende gebruik daarvan in ekologiese assessering is swak.[11, 12]

Ekotoksikologiese risiko-analise van kontaminante is grootliks afhanklik van ekstrapolasies en die toepassing daarvan op grondomgewings is vol slaggate. Deur die gebruik van sensitiwiteitsgegewens[13] vir verskeie spesies sowel as statistiese regressietegnieke, is verskeie modelle[14, 15, 16, 17] reeds voorgestel. Op een of ander wyse is hierdie ekstrapolasiemodelle almal afhanklik van sekere subjektiewe prosedurele en fundamentele aannames of oordele. Besluite moet geneem word oor:

- Geen-waarneembare-effek-konsentrasies (GWEK) (Eng. NOEC).
- Die kwaliteit van die insetgegewens.
- Die veiligheids- of beskermingsvlak.
- Die keuse van spesies op grond van hulle gevoeligheid.
- Die mate waartoe hulle as verteenwoordigend van ander spesies of bepaalde omgewings kan optree (om verskillende fisiologiese meganismes, opnameroetes en ekotipes in te sluit).
- Ekstrapolasiefaktore wat toegepas word tussen laboratorium- en veldresultate.
- Die ordevlak van die veiligheids- of beskermingsvlak wat toegepas gaan word om ’n sekere aantal spesies te beskerm.
- Die normalisering van die gegewens vir die verskille in eienskappe van verskillende gronde.

Die historiese en onlangse ontwikkelings en benaderings wat in hierdie verband in Europa gevolg word, word opgesom deur Van Straalen en Van Leeuwen.[18]

Die doel van hierdie oorsigstudie is om ’n bydrae te lewer tot die debat en opheldering van die konsep van biobeskikbaarheid ter wille van die doelmatige aanwending daarvan in die grondomgewing. Hiermee saam word ’n oorsig verskaf oor die vordering wat tot dusver gemaak is

om die konsep van biobeskikbaarheid te ontwikkel en te inkorporeer in ekotoksikologiese risiko-assessering en bestuur van chemiese blootstelling in gronde.

WAT IS BIOBESKIKBAARHEID?

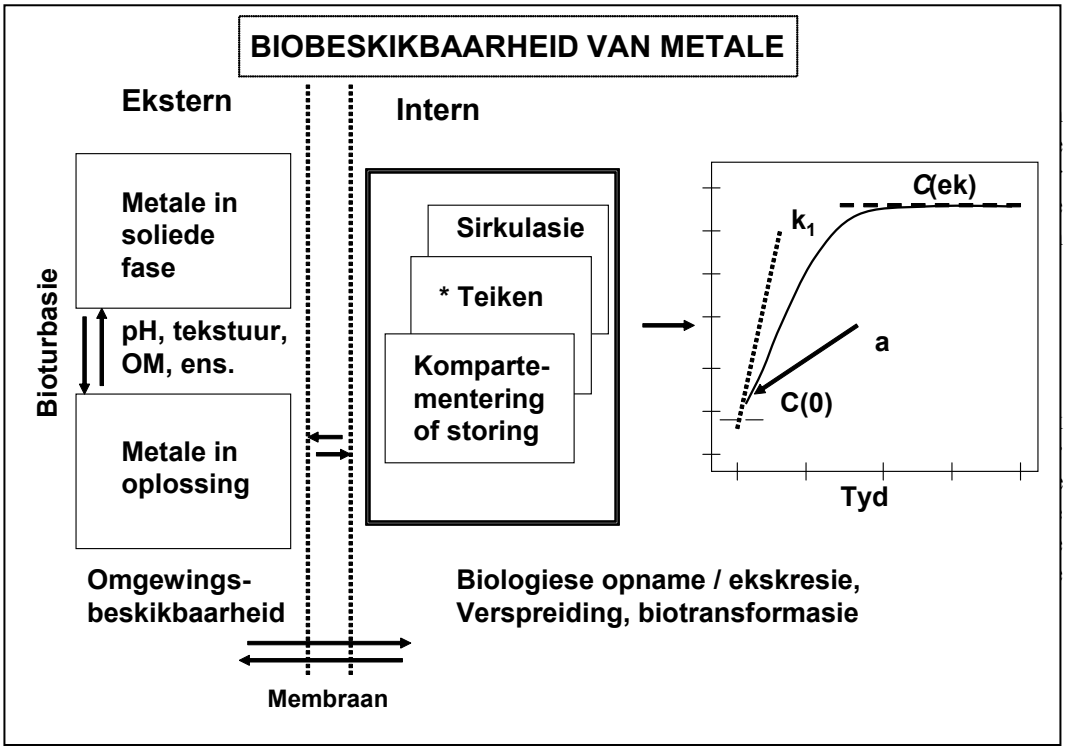
’n Chemiese verbinding se beskikbaarheid vir opname deur organismes word gewoonlik gelyk gestel aan sy biobeskikbaarheid.[19] Dit verwys na daardie fraksie of gedeelte (wat nie analities geredelik meetbaar is nie weens die dinamiese aard daarvan) van die totale, in die omgewing teenwoordige (analities meetbare) hoeveelheid van die stof wat in sodanige vorm beskikbaar is dat dit deur die betrokke organisme opgeneem kan word. Dit verwys dus na sowel die hoeveelheid as die toestand/vorm van die verbinding. Die hoeveelheid wat werklik opgeneem word, is die resultaat van opname- en uitskeidingsprosesse en mag fluktueer voordat dit ’n ewewig bereik. Vijver[20] beskou biobeskikbaarheid as ’n fisiologies gedrewe opnameproses. Die liggaamslading of residuvlak is gevolglik dinamies en tydsgebonde en mag óf in verhouding wees met, óf ’n akkurate beeld wees van die biobeskikbaarheid op die oomblik van die meting daarvan, óf dit mag nie die geval wees nie. Dit is dikwels van ’n veranderende aard, afhangende van die organismes en verbindings wat betrokke is. Die liggaamslading kan dus nie in alle gevalle as betroubare maatstaf dien van die omvang van biobeskikbaarheid nie, veral aangesien dit nie die hoeveelheid insluit wat in die lewer getransformeer is nie maar wel dit wat bloot aan die liggaamsoppervlak (ook aan kieustrukture) vassit. Dit gee wel ’n algemene aanduiding dat die chemiese verbinding teenwoordig is en dat dit tot ’n sekere omvang biobeskikbaar mag wees.

Die terme “beskikbaar” en “biobeskikbaar” word dikwels op ’n losse wyse, uitwisselbaar gebruik om verskillende dinge vir verskillende outeurs te beteken.[21] ’n Mens kan redeneer dat beskikbaarheid bloot verwys na die teenwoordigheid van ’n stof in die omgewing en dat dit dieselfde is as die totale, analities meetbare omgewingskonsentrasie, terwyl biobeskikbaarheid slegs verwys na daardie fraksie wat potensieel opgeneem kan word weens die chemiese vorm en fisiese binding daarvan onder heersende toestande. Sommige navorsers[21] gebruik die term beskikbaarheid om te verwys na daardie fraksie van die totale konsentrasie wat geëkstraheer en gemeet kan word. Dit sal dan die gevolg wees van die spesifieke chemiese vorm van die stof en die oplosbaarheid daarvan in poriewater. Laasgenoemde verteenwoordig die belangrikste opnameroete by baie grondlewende invertebrate. Hierdie navorsers beskou die ekstraheerbare konsentrasie in die poriewater dan as óf die “biobeskikbaarheid” óf ’n skatting óf ’n refleksie daarvan. Ander navorsers[67] sal op hulle beurt die term biobeskikbaarheid beperk tot daardie fraksie van die totale konsentrasie wat werklik opgeneem word. Die redenasie is dat dit wat nie opgeneem word nie, dus streng gesproke nie biobeskikbaar is nie. Of die hoeveelheid van die stof wat biologies beskikbaar is vir opname werklik opgeneem word deur die organismes sal, afgesien van die fisies-chemiese faktore van die omgewing, ook afhanklik wees van faktore of prosesse soos gedrag, voedingskoers, beweeglikheid, fisiologiese regulering, deurlatendheid van membrane, ensovoorts. Die losse en ongekwalifiseerde gebruik van die konsep van biobeskikbaarheid in die vakliteratuur, sonder dat die belangrike rol van ekologiese faktore en fisiologiese prosesse in ag geneem is, het ongelukkig bygedra tot verwarring oor die rol daarvan in die assessering van risiko.

Die kwantifisering van blootstellings is ’n belangrike deel van alle risiko-assesseringskemas. Om egter werklike blootstelling te kan bepaal, vereis inligting en duidelikheid oor wat met biobeskikbaarheid bedoel word. ’n Meer aanvaarbare benadering[22, 23] is om onderskeid te tref tussen die volgende:

- Omgewingsbeskikbaarheid, wat verwys na die konsentrasie van die kontaminant buite die liggaam van die organisme.

- Biobeskikbaarheid, wat verwys na die hoeveelheid wat opgeneem word deur die membrane en wat versprei, uitgeskei word, gemetaboliseer word of bio-akkumuleer in die liggaam en wat ruimtelik en temporaal kan varieer.
- Farmako-beskikbaarheid of toksikologiese beskikbaarheid, wat verwys na die hoeveelheid van die stof wat werklik die plek van werking (teiken) bereik, maar wat nie direk meetbaar is as die effek-konsentrasie of kritiese konsentrasie nie (kyk Figuur 1).



Figuur 1: *Skematiese model om die dinamiese aard van metale se biobeskikbaarheid in grond te illustreer. (Me = metaal; OM = organiese materiaal; C = konsentrasie; a = aanvanklike opnamekoers). *Teiken – die farmakologiese/toksikologiese beskikbaarheid verwys na die hoeveelheid van die stof wat werklik die plek van werking (teiken) bereik en die respons tot gevolg het (ook die effek-konsentrasie of kritiese konsentrasie genoem).*

Aangesien risiko-assessering van chemiese stowwe dikwels op enkelspesietoetse gebaseer word, bestaan die neiging om tussen spesies te ekstrapoleer omdat elke chemiese stof nie op alle spesies wat beskerm moet word, getoets kan word nie. Die biobeskikbaarheid van dieselfde verbinding in dieselfde natuurlike of kunsmatige, gestandaardiseerde omgewing, mag egter verskil vir verskillende spesies as gevolg van hulle verskille in voedingsgewoontes en gedragspatrone, asook hulle verskille in biochemiese, fisiologiese en morfologiese eienskappe. Opname van chemiese stowwe deur spesies soos erdwurms, wat sagte liggame het, sal aansienlik verskil van opname deur spesies met harde liggaamswande soos kewers. Wanneer daar dus gepoog word om die relatiewe gevoeligheid van verskillende spesies te bepaal deur verskillende response op blootstelling aan ’n chemiese stof te vergelyk, moet daar sekerheid wees dat die hoeveelhede van die stof wat die interne reseptore bereik ook vergelykbaar is. Dit vereis dat die organismes of organe wat betrokke

is, chemies ontleed moet word op die tydstip van die respons. Indien dit gedoen kan word, verskaf dit die sogenaamde kritiese liggaamslading of kritiese konsentrasie, waarvan die meting egter haas onmoontlik is. Die vergelyking van hierdie toksiese konsentrasies vir die twee spesies kan dan die letale of subletale toksisiteit van die verbinding oplewer in absolute terme vir die verskillende spesies, maar dit mag steeds nie relevant wees vir doeleindes van ’n ekotoksikologiese evaluasie van die omgewingsrisiko daarvan vir die verskillende spesies of ander ekostelselfunksies nie. Die rede hiervoor is dat die biobeskikbaarheid onder soortgelyke toestande kan verskil vir verskillende spesies as gevolg van hulle eie unieke samestelling, lewenstadium, aktiwiteite[30] of die aktiwiteite van die organismes wat met hulle geassosieer is.[31] In die geval waar gekyk word na verskeie chemiese stowwe van verskillende aard, kan die hoeveelheid wat opgeneem word drasties verskil van die hoeveelheid wat die reseptor bereik by blootstelling aan die verskillende verbindings. Dit kan onder andere die gevolg wees van kompartementalisering soos wat vir metale in houtluise deur Odendaal en Reinecke[32] bevind is, of byvoorbeeld die gevolg van ’n biotransformasie in die geval van organiese verbindings.[33, 34] Nóg die eksterne, omgewingsbeskikbare hoeveelheid nóg die resulterende opname is gevolglik betroubare voorspellers van die hoeveelheid wat uiteindelik die teiken bereik. Die verbinding wat die teikenreseptor bereik, kan, soos in die geval van poli-aromatiese koolwaterstowwe (PAK’s), ’n metaboliet wees van die oorspronklike verbinding en kan óf meer óf minder toksies wees as die oorspronklike verbinding.

Skynbare verskille in sensitiwiteit tussen spesies kan ook eerder die resultaat wees van ’n verskil in biobeskikbaarheid van ’n bepaalde stof in verskillende substrate of selfs ’n verskil in opneembaarheid vir verskillende spesies eerder as ’n verskil in kwesbaarheid of inherente gevoeligheid. Dit beklemtoon ook die belangrikheid daarvan om in die algemeen te onderskei tussen toksisiteit vir die organisme onder beheerde toestande en omgewingstoksisiteit van ’n kontaminant. Die twee verskil eintlik drasties in terme van die wyse waarop die dosis “toegedien” word, of die wyse waarop dit die organisme bereik. Dit sal op sy beurt die hoeveelheid van die verbinding bepaal wat opgeneem word en wat die teiken bereik. Soos wat Ahlf en Förstner[7] dit stel, is biobeskikbaarheid in die grond die komplekse resultaat van chemiese stof/grondpartikel wisselwerking wat verder beïnvloed word deur die organisme se aktiwiteit. Verder is dit ook organisme-spesifiek, organisme-afhanklik en selfs lewenstadiumafhanklik en sal dit beïnvloed word deur die soort omgewing waarin die organisme blootgestel word. Studies wat gedoen word om spesies te vergelyk, moet hierdie kompliserende faktore in ag neem en blootstellingseksperimente behoort onder die mees realistiese toestande wat moontlik is, uitgevoer te word. Die gebruik van kunsmatige substrate (soos OECD-grond) mag nuttig wees om standaardisasie en herhaalbaarheid in toetsprosedures te bereik, maar mag nie ’n realistiese vergelyking verskaf van die biobeskikbaarheid van ’n stof vir verskillende spesies onder hulle natuurlike toestande nie. Die insluiting van ’n verouderingsperiode (vir die verbinding in die substraat of grond) in die prosedure kan ook help om hierdie gaping te oorbrug maar ’n lokaliteit-spesifieke benadering mag vir hierdie doel selfs meer realisties, maar ook meer omslagtig wees.

VERGELYKING VAN BIOBESKIKBAARHEID IN VERSKILLENDE GRONDE

Die ekstrapolasie van toksisiteitsgegewens tussen verskillende grondtipes of tussen toetsgrond in die laboratorium en grond in die veld is nie eenvoudig nie. Van Gestel en Ma[35] het aangetoon dat die LC50-waarde (die dosis van ’n toksiese substans wat sal lei tot die dood van 50% van ’n getoetste populasie) van verskeie kontaminante vir erdwurms baie kan verskil in verskillende grondtipes as gevolg van die verskille in die binding van die kontaminante aan die grondpartikels. Dit kan lei tot ’n verandering in die biobeskikbaarheid. Verhoogde retensie as gevolg van sorpsie en as gevolg van veroudering is bekend vir verskeie anorganiese verbindings.

Uit die literatuur is dit duidelik dat die biobeskikbaarheid van ’n besoedelstof in grond nie slegs afhanklik is van omgewingstoestande soos pH, grondvog, temperatuur, organiese inhoud en

gronddigtheid[36, 37] of van die chemiese aard en spesiasie van die verbinding nie, maar ook van inkubasietyd, die rol van mengsels[38] en ’n verskeidenheid biologiese faktore.[39] Die meeste studies[35, 40, 41] het in die onlangse jare die konsep van biobeskikbaarheid vanuit ’n fisies-chemiese hoek benader en het die porie-water hipotese,[42] die konsep van partisie-ekwilibrium en gegewens oor sorpsie, gebruik in pogings om toksisiteitsdata tussen gronde op ’n gestandaardiseerde wyse te “vertaal”. Aangesien dit aangetoon is dat die biobeskikbaarheid van sekere chemiese verbindings vir erdwurms in gronde sterk verband hou met die konsentrasie opgelos in grondwater,[43, 44] is die meting van grondwater se konsentrasies gesien as waardes wat in noue ooreenstemming is of vergelykbaar is met die biobeskikbaarheid van die verbinding.

Absorpsie deur die spysverteringskanaal mag steeds ’n belangrike rol speel in die opname van sekere verbindings.[38] Daarbenewens kan die bioturbasie en ander aktiwiteite van geassosieerde organismes die verspreiding, blootstelling en biobeskikbaarheid van ’n kontaminant vir ander spesies beïnvloed. Indien erdwurms byvoorbeeld nie Pb geakkumuleer het nie sou dit moontlik minder “biobeskikbaar” gewees het vir inname deur kleinsoogdiere[45, 46] soos skeerbekkies en molle, omdat die wurms dit akkumuleer en as oordraers daarvan optree wanneer hulle as prooi vir die soogdiere dien. Dieselfde argument geld vir predator-prooi verhoudings binne die grondgemeenskappe. Orale inname via voedsel verteenwoordig ’n ander tipe beskikbaarheid as die beskikbaarheid wat grondorganismes ervaar tydens opname deur hulle liggaamswand. Dit is algemeen bekend dat mikro-organismes die komplekseringstoestand van chemiese stowwe kan beïnvloed en gevolglik ook hulle beskikbaarheid vir opname deur ander organisms.[47] In die geval van metale is reeds aangetoon[21] dat die anorganiese en organiese vorms verskillende toksisiteite het wat ook verband mag hou met verskille in biobeskikbaarheid.

Die fisies-chemiese benadering hierbo vermeld, het wel tot ’n verbeterde begrip gelei van die meganismes wat betrokke is by die beheersing van beskikbaarheid en mobiliteit van verskillende verbindings in verskillende gronde. Dit verskaf ’n meer wetenskaplike basis (waarby die belangrikste biologiese parameters egter nie ingesluit is nie) vir die “skatting” van biobeskikbaarheid, maar verskaf nog steeds nie ’n betroubare en maklike manier om tussen gronde te ekstrapoleer nie.[48] Verder los dit nog nie die probleme op wat regulatoriese owerhede het wanneer hulle moet voldoen aan die bepalings en voorskrifte van grondbeskermingswette nie. Hierdie wette, soos die Duitse Federale Wet op Grondbewaring[49] wat risikolimiete spesifiseer vir verskeie kontaminante,[50] en die Nederlandse Bodembeskermingswet op basis waarvan ’n rondskrywe[51] teikenwaardes en intervensiewaardes[52] gestel het vir omgewingskonsentrasies, strewe na generiese waardes. Die geldigheid van die vlakke van hierdie waardes, wanneer verskillende gronde vergelyk word, kan op wetenskaplike gronde in bepaalde omstandighede bevraagteken word as synde óf te hoog óf te laag. Een rede hiervoor is dat die konsep van biobeskikbaarheid nie geïnkorporeer is in die bepaling van hierdie waardes nie; of dat die normalisering van hierdie waardes nie ten volle rekening hou met al die veranderlikes of “kwalifiserende” faktore[17] wat betrokke is nie. Basta en Gradwohl[10] het chemiese fraksioneringsmetodes vir die skatting van biobeskikbaarheid in twaalf gekontamineerde gronde vergelyk en tot die slotsom gekom dat dit onwaarskynlik is dat grondekstraksiemetodes ontwikkel kan word wat *in vivo* biobeskikbaarheid kan repliseer. Volgens hulle is die kompleksiteit van biologiese stelsels sodanig dat dit net nie moontlik is nie. Hulle waarsku trouens dat analitiese gegewens van grondekstraksies met versigtigheid hanteer moet word en net gebruik behoort te word wanneer gronde met eenderse chemiese en minerale matrikse vergelyk word, tensy die bevindings vir verskillende gronde gevalideer kan word met werklike biobeskikaarheidsgegewens. Die benadering van Van Straalen et al.[2] is om eerder na opnamekoerse by verskillende spesies te kyk as aanduiders van biobeskikbaarheid. Hierdie outeurs gebruik die aanvanklike helling van die opnamekromme vir die doel. Die praktiese gebruik daarvan vir doeleindes van risko-assessering is onwaarskynlik weens die omvang en koste van die prosedures en ontledings, maar dit mag ’n meer betroubare beeld bied as wat tot dusver deur skattings of blote aannames verkry word.

’n Enkele chemiese ekstraksie of fisiese toets kan nie ’n verbinding se algemene biobeskikbaarheid bepaal nie, omdat dit eenvoudig altyd ’n biologiese kwalifisering vereis. ’n Vereenvoudigde chemiese fraksioneringsmetode[10] soos die “ Potentially BioAvailable Sequential Extraction (PBASE)” kan wel ’n goeie skatting oplewer van die kontaminant se biobeskikbaarheid, maar stel nog nie die egte biobeskikbaarheid daar nie. Dieselfde argument geld vir die gebruik van die semi-deurlatende mebraantegnieke.[53, 54]

Gebruik van bio-evaluerings en liggaamsladings om biobeskikbaarheid te bepaal

Alhoewel dit as vermoeiend en tydrowend beskou word, word die werklike toksisiteit van gronde dikwels beter bepaal deur grond vanaf die veld in sogenaamde “bioassays” te toets. Hier word gekose spesies direk in die gronde blootgestel.[55, 56, 57] Van Gestel et al.[58] het getoon dat chroniese bio-evaluerings van grondmonsters wat op subletale eindpunte konsentreer, gevoeliger kan wees as akute bio-evaluerings wat van die resultaat van grondekstraksies gebruik maak om die toksisiteit van byvoorbeeld oliebesoedelde gronde deur middel van blootstellingstoetse te bepaal. Die algemene aanwending van bio-evaluerings het tot die gevolgtrekking gelei dat indien dit met erdwurms gedoen word, dit as direkte maatstaf van die biobeskikbaarheid van kontaminante kan lei,[59, 60] omdat dit meer biologies relevant is as om die resultaat van opeenvolgende ekstraksies as maatstaf van biobeskikbaarheid te beskou. Die konsentrasie in die blootgestelde organisme kan dan gebruik word as maatstaf van biobeskikbaarheid, ook in biomoniteringsprogramme waar eksemplare van organismes uit die veld uit gebruik word. ’n Goeie en klassieke voorbeeld hiervan is die “mussel watch”-program in die VSA.[61] Hierdie benadering kan tot foute lei omdat residu-gegewens baie omsigtige toksikokinetiese interpretasie[2] vereis en omdat die kwessie van hoe verteenwoordigend een spesie van ander spesies is, nog lank nie opgelos is nie. Die persisterendheid/blywendheid van die verbinding in die liggaam kan wissel,[62] veral in gevalle waar die verbinding fisiologies gereguleer kan word deur die organisme.[1] Organiese verbindings kan natuurlik ook biotransformasie ondergaan na opname en eksterne konsentrasies in die grond en die resulterende opname mag nie goeie aanduiders wees van hoeveelhede of chemiese vorme wat teikens in die liggaam bereik nie.[36] Hopkin[63] het ook tot die gevolgtrekking gekom dat die gebruik van interne konsentrasies in biomonitering ’n bruikbare maar indirekte maatstaf kan bied van biobeskikbaarheid, sodra die ekwilibrium bereik is tussen opname en uitskeiding. Uitwerkings op die organisme self kan as ’n aanduiding van biobeskikbaarheid beskou word, maar laasgenoemde benadering word gewoonlik gekortwiek deur ’n gebrek aan geskikte verwysingsgrond waarmee dit vergelyk kan word.

Hoewel Morgan et al.[64] meen dat grondorganismes goeie indikatore van die biobeskikbaarheid van metale kan wees, word gewaarsku dat genetiese aanpassing valse aanduidings kan gee, omdat aangepaste organismes verskillende bio-akkumulasiepatrone mag vertoon as nie-aangepastes. Dit is ook waar vir die gevoeligheid van spesies. Indien seleksie ten gunste van meer tolerante genotipes plaasgevind het, sal hulle minder gevoelig wees. Die gevoeligheid van die toetsorganismes is natuurlik van groot belang vir die herhaalbaarheid van resultate in toksisiteitstoetse. Veranderinge in genetiese diversiteit, ook bekend as “genetiese erosie” wat deur sterk rigtinggewende seleksie deur omgewingskontaminante of ander langdurige stresfaktore veroorsaak word, kan toksisiteitseindpunte wysig en word nog skaars in ag geneem in die ekostoksikologie.[65]

Bio-evaluerings is by nabaat evaluerings van gronde vanaf gekontamineerde lokaliteite en nie noodwendig voorspellend van stelsels wat nog nie biologies getoets is nie. Weens die verskille in biobeskikbaarheid van besoedelstowwe in verskillende substrate, behoort bio-evaluering, afgesien daarvan dat die effekte op organismes bestudeer word, ook metings in te sluit van chemiese konsentrasies in liggaamsweefsels alvorens dit van waarde kan wees vir die kwantifisering van ekstrapolasiefaktore in laboratorium-tot-veld ekstrapolasies.[36] Sonder dat die

gegewens oor chemiese spesiasie, sorpsie, bio-akkumulasie, toksiese effekte en interne liggaamskonsentrasie gekombineer word, is betroubare ekstrapolasie waarop "veilige" kontaminasievlakke vir regulatoriese doeleindes gebaseer word, nouliks moontlik. En selfs dan mag interne effek-konsentrasies nie konstant wees in grondorganismes nie[27] en kan dit boonop nog beïnvloed word deur omgewings- en fisiologiese faktore. Min is ook bekend oor grondorganismes se vermoëns om toksiese stowwe te reguleer of hulle toleransies en hoe dit deur die ontwikkeling van weerstandigheid kan verander. Gevolgtrekkings oor die risiko van toksiese stowwe kan gevolglik nie uitsluitlik gebaseer wees op gegewens van bio-evaluerings of biomoniterings nie. Die spesies wat die hoogste residue bevat, is nie noodwendig dié wat die hoogste risiko loop nie.[1] Van Straalen en Van Wensem[66] het voldoende getuienis aangebied om te toon dat verskillende spesies van grondorganismes vanaf dieselfde grond heeltemal verskillende vermoëns het om interne metaalkonsentrasies te beïnvloed. Dit bevestig nogmaals dat biobeskikbaarheid nie slegs 'n fisies-chemiese aangeleentheid is nie maar ten sterkste verband hou met die betrokke spesie.

Die kwessie van toksiese risiko word bemoeilik deur die feit dat die hoeveelheid van die chemiese stof wat deur die organisme opgeneem word, kan verskil van die hoeveelheid wat die reseptor bereik. Dit kan die resultaat wees van kompartementalisering, biotransformasie of snelle ekskresie[67, 23] en is ook 'n funksie van tyd.[68] Die totale liggaamslading mag gevolglik ook 'n swak weerspieëling wees van die interne dosis wat die toksiese effek veroorsaak. Die sogenaamde farmako-beskikbaarheid of toksikologiese beskikbaarheid[30] verwys na die fraksie van die biobeskikbare hoeveelheid (wat deur die organisme opgeneem word) wat eintlik die toksiese respons veroorsaak. Daar word ook hierna verwys as die "kritiese vlak", "kritiese liggaamslading"[39] of "drempelvlak" of "interne effekkonsentrasie" maar moet nie met teoretiese terme soos die berekende of statisties afgeleide "grondkwaliteitskriteriums"[69, 70] verwar word nie. Laasgenoemde staan ook as die "drempelkonsentrasies" bekend maar word verskillend gedefinieer vir doeleindes van regulatoriese risiko-assessering. Die interne drempelkonsentrasie[70] word omskryf as die interne ekwilibriumkonsentrasie in 'n organisme wat korrespondeer met die eksterne drempelkonsentrasie. Hierdie is nie parameters wat geredelik meetbaar is nie en word teoreties geskat vir doeleindes van omgewingsbeskerming soos wat byvoorbeeld die geval is met die bio-indikatorindeks.[1] Die kwantifisering van die werklike konsentrasie van die interne, biobeskikbare fraksie (van óf die omgewingsbeskikbare óf die intern beskikbare konsentrasie) of die werklike interne effek-konsentrasie is afhanklik van 'n interne ewewig in die interne konsentrasie en dit is verskillend vir verskillende kontaminante. Sonder 'n duidelike begrip van die ekologies-relevante subletale eindpunte wat met 'n spesifieke residuhoeveelheid (wat die spesifieke reseptor bereik), geassosieer word, het dit steeds beperkte direkte toepassing in ekologiese assessering van risiko. Die feit dat baie organismes toksiese stowwe kan kompartementaliseer of sekwestreer,[71] en dit gevolglik nie beskikbaar maak om met reseptore te reageer nie, illustreer die belangrikheid en relevansie daarvan om te weet wat die werklike fraksie van 'n verbinding is wat die reseptor bereik onder spesifieke omgewingstoestande. Die kwantifisering daarvan bly egter problematies. Groot hoeveelhede kontaminante kan in skulpe of eksoskelette van organismes geberg word waar dit nie biologies aktief is nie. Aangesien die aktiewe fraksie nie geredelik meetbaar is nie, is die volgende moontlike stap om 'n redelik akkurate skatting van hierdie fraksie te kry.

Biomerkers en risiko-assessering

As die goeie dosis-responsverhoudings wat reeds verkry is vir sommige biomerkerresponse en verskeie chemikalieë in ag geneem word, kan die vraag gevra word of die geskatte interne, biobeskikbare fraksies nie betroubaar afgelei sou kon word vanaf hierdie bekende responsverhoudings nie. Dit mag alternatiewe en meer praktiese maniere bied om die probleme rondom biobeskikbaarheid aan te spreek, veral wanneer kriteria vir omgewingskwaliteit opgestel

moet word vir generiese gebruik deur regulatoriese owerhede vir doeleindes van risiko-assessering. Of word ons deur die heterogeniteit en kompleksiteit van grond verplig om aan lokaliteitspesifieke kriteriums te dink vir elke unieke omstandigheid (gedifferensieerde omgewingskwaliteitskriteria)? Dit sal ’n totaal verskillende benadering verg[72] as die standaard een wat tans geïmpliseer of aanvaar word binne die raamwerk van bestaande wetgewings en regulasies in baie ontwikkelde lande.

Risiko-assesering[73] van kontaminante behels in die eerste plek assessering van blootstelling waarby die skatting van die voorspelde omgewingskonsentrasie (VOK) (Engels: Predicted Environmental Concentration of PEC) van ’n vrygestelde verbinding in die omgewing inbegrepe is en gebaseer is op inligting oor die produksie, prosessering, wegdoening en gebruik daarvan. Tweedens, behels dit die assessering van effekte, gebaseer op gegewens vanaf akute en chroniese toksisiteitstoetse waaruit deur ekstrapolasie konsentrasies verkry word waarby geen nadelige effekte voorkom nie (die sogenaamde voorspelde geen-effek konsentrasie) (VGEK) (Engels: Predicted No Effect Concentration of PNEC). In die derde plek volg risiko-karakterisering deur die VOK met die VGEK te vergelyk. Indien die VOK>VGEK word pogings aangewend om blootstelling/effek gegewens te hersien en te verfyn sodat die risiko nog meer akkuraat bepaal kan word. Indien die VOK steeds groter sou wees as die VGEK, word maatreëls oorweeg om die risiko wat so geïdentifiseer is, te verminder.

Hierdie bestaande metodologie vir assessering van omgewingsrisiko (bekend in Engels as Environmental Risk Assessment of ERA) waarvolgens risiko bepaal word vir die assessering van blootstellings in die veld, is dikwels gebaseer op simplistiese aannames oor die biobeskikbaarheid van die voorspelde omgewingskonsentrasie (VOK) of selfs ’n totale ignorering van die belangrikheid daarvan. Ook die metodologie waarvolgens effekte geassesseer word, is gebaseer op simplistiese aannames oor die verspreiding van gevoelighede. Dit mag wel gebeur dat ’n groeiende databasis in die toekoms hierdie aannames kan valideer, maar die benaderings kan in beide gevalle foutief wees indien die aannames oor biobeskikbaarheid nie die hoogs dinamiese aard van opname en uitskeiding sowel as ander biologiese prosesse in ag neem nie.

Indien die aannames oor gevoeligheidsverspreidings nie die moontlikheid in ag neem dat verskuiwings in die gevoelighede van lewenslope kan plaasvind nie[74] of van genetiese erosie[65] nie, kan die bevindinge foutief wees of in elk geval so ver van die kol af dat dit onbruikbaar is. Onsekerheid kan wel in ag geneem en hanteer word deur onsekerheidsfaktore in te werk, gegrond op die karakterisering en grootte van die onsekerheid. Juis daarom is dit belangrik dat die onsekerhede wat deur verskille in biobeskikbaarheid meegeebring word, volledig gekarakteriseer moet word sodat dit na waarde geskat kan word. Die algemene houding is dat hoewel die huidige prosedure nie risiko geheel en al kan uitskakel nie, dit wel risiko verminder tot ’n meer aanvaarbare vlak. Maar dan bly die vraag steeds - wat is aanvaarbare vlakke? Aanvaarbaar vir die beskerming van watter spesies of watter funksies in die ekostelsel? ’n Beter teoretiese begrip van biotiese en abiotiese wisselwerkings is steeds nodig om gegewens meer doeltreffend te interpreteer,[75, 76] ook in terme van die funksionering van grondekostelsels.

Ten einde die kritiese effekkonsentrasie van ’n gifstof te bepaal, kan ’n benadering gevolg word waarvolgens ’n enkele, sensitiewe lewensloop-eienskap of veranderlike gebruik word in samehang met ’n biomerkerrespons om vas te stel welke eienskappe die gevoeligste is vir watter konsentrasies. Alternatiewelik kan ’n meer omvattende evaluering gedoen word op die basis van die reaksie-norm vir lewensloopeienskappe[77] aangesien die belemmering van aangepastheid bepaal kan word deur minder gevoelige veranderlikes of eienskappe. Selfs verskuiwings in lewensloopresponse kan voorkom in reaksie op strestoestande[74] en die toestande kan met behulp van biomerkers geïdentifiseer word. Laasgenoemde benadering sal ’n meer ekologies relevante antwoord verskaf. Eersgenoemde kan egter ’n meer praktiese, vroeë waarskuwing bied van potensiële gevaar, en mag ook makliker toepasbaar wees vir regulatoriese doeleindes. In hierdie geval het biomerkers (wat hier gebruik word in die strenger definisie van Van Gestel and Van

Brummelen[78]) in die laaste jare toenemend veld gewen[79, 80] as maklike en akkurate verskaffers van meganistiese skakels tussen effekte op die molekulêre, mikrostrukturele, biochemiese en fisiologiese vlakke. Aangesien biomerkerresponse direk verband hou met die biobeskikbaarheid van chemiese verbindings[76] is hulle reeds voorgestel vir skanderingsdoeleindes in besoedelde gebiede. Hulle mag ’n beter beeld verskaf van die gemobiliseerde of aktiewe kontaminante in ’n bepaalde liggaamspoel of kompartement.[71] Die aanwending was tot dusver baie beperk weens onsekerheid omtrent hulle inherente responsvariansie en weens ’n gebrek aan kalibrasie in terme van kousaalgekoppelde, ekologies-relevante eindpunte.[80, 81, 82] Dit mag egter slegs wees omdat daar nog ’n skaarste aan toepaslike gegewens is. Dit is denkbaar dat die gelyktydige insameling van eksperimentele biomerkerinligting vir ekologies relevante eindpunte, selfs in akute toetse, in die toekoms hierdie gaping sal vul.

Die idee om biomerkers te gebruik vir meer akkurate, kwantitatiewe bepaling van blootstelling, wen reeds veld.[28, 80, 22] Weens die baie kompleksiteite en die verskeidenheid parameters wat die biobeskikbaarheid van besoedelstowwe in gronde beïnvloed, is dit moeilik om praktiese risiko-assesseringsprosedures daarby aan te pas. Gevolglik is nuwe benaderings nodig. Dit is verstaanbaar dat regulatoriese owerhede risiko-assesseringsprosedures wil vereenvoudig en meer hanteerbaar wil maak. Dit moet egter gedoen word met die gepaardgaande erkenning van die biologiese aard van die biobeskikbaarheidskonsep, sodat biologiese werkswyses gevolg word om dit te bepaal. Daardeur kan geskatte biobeskikbaarheidswaardes wat deur chemiese fraksioneringsmetodes soos PBASE[10] verkry word, gevalideer word en hulle betroubaarheid en bruikbaarheid verhoog word.

GEVOLGTREKKINGS

Dit is duidelik dat beide biotiese en abiotiese faktore ’n invloed het op die biobeskikbaarheid van ’n besoedelstof vir grondorganismes. Daarom is dit nodig om ’n dinamiese benadering te volg wat beide fisies-chemies gedrewe desorpsie en fisiologies gedrewe opnameprosesse sowel as ’n verskeidenheid ander biologiese faktore in ag neem. In die huidige praktyk word dit egter selde in ag geneem wanneer daar gepoog word om algemene kwaliteitskriteria vir besoedelstowwe in die omgewing neer te lê. Die kriteriums moet van toepassing wees op verskillende grondtipes met verskillende faunistiese en floristiese samestellings. Om die omvang van kontaminasie te beoordeel vir doeleindes van risiko-assessering of vir bestuursdoeleindes van landboubespuitingsprogramme deur slegs van omgewingskonsentrasies gebruik te maak, is dus nie wetenskaplik regverdigbaar nie. Sonder die oorweging van die rol van die tersaaklike biologiese komponente en prosesse waaronder bioturbasie (wat mobiliteit van kontaminante beïnvloed), spesiasie en transformasie, kan realistiese antwoorde nie verkry word nie.

Hierdie oorsig van die vakliteratuur het getoon dat hoewel die konsep van biobeskikbaarheid belangrik is vir die bepaling van toksisiteit in gronde, dit op losse en teenstrydige wyses gebruik word en nog nie ten volle geïntegreer is in huidige risiko-assesseringsmetodologie nie. Sonder die vermoë om spesifieke toksiese eindpunte met interne effekkonsentrasies te kan verbind vir ’n redelike getal funksioneel-belangrike spesies, en nie slegs met totale liggaamsladings nie, is die afleiding van realistiese en biologies-relevante grondstandaarde nie moontlik nie. Selfs wanneer dit moontlik sou wees, moet die verband met ekologies-belangrike funksies steeds opgeklaar word indien die eintlike doel is om ekologiese funksies eerder as spesifieke spesies te beskerm. Die inkorporering van verskillende chemiese en fisiese parameters (wat biobeskikbaarheid kan beïnvloed) in komplekse modelle, was tot dusver nuttig om die meganismes wat betrokke is, te verstaan. Dit kan wel help om geskatte of voorspelde waardes van biobeskikbaarheid te kry. Hierdie waardes moet egter nie aanvaar of vertolk word asof dit egte, kwantitatief gemete waardes is nie, maar aannames gegrond op die beste beskikbare kennis ten tye van assessering. Dit moet met die nodige *caveat* gebruik word dat dit afgeleide

waardes is wat verkry is, in elk geval wat ekotoksikologiese risiko-assessering van gronde betref, sonder volledige oorweging van die biologiese faktore wat betrokke is. Dit het veral beperkte praktiese toepassing vir reguleerders wat met die beskerming van verskillende spesies in ’n verskeidenheid van variërende toestande in verskillende omgewings te doen kry. Dit mag op hierdie tydstip ’n meer verantwoordbare benadering wees om nie op ’n rigiede wyse aan generiese chemiese omgewingstandaarde te hou vir alle situasies nie, maar elke situasie volledig kwantitatief en kwalitatief te beoordeel.

Biomerkerresponse mag in die toekoms help om as praktiese, diagnostiese hulpmiddels die assessering van biobeskikbaarheid te verbeter en verdien verdere ondersoek.

BIBLIOGRAFIE

1. Van Straalen, N.M. (1996). Critical body concentrations: their use in bioindication. In *Bioindicator systems for soil pollution.*Van Straalen, N.M., Krivolutsky, D.A. eds. Kluwer Academic, The Netherlands, pp. 5-16.
2. Van Straalen, N.M., Donker, M.H., Vijver, M.G., Van Gestel C.A.M. (2005). Bioavailablity of contaminants estimated from uptake rates into soil invertebrates. *Environ. Poll.,* 136, 409-417.
3. Griscom, S.B., Fisher, N.S., Luoma, S.N. (2000). Geochemical influences on assimilation of sediment-bound metals in clams and mussels. *Environ. Sci. Technol.,* 34,91-99.
4. Kelsey, J.W., Kottler, B.D., Alexander, M. (1997). Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals. *Environ. Sci. Technol.,* 31, 214-217.
5. Gandrass, J., Salomons, W. (2001). Project report “Dredged material in the port of Rotterdam-Interface between Rhine catchment area and North Sea.” (GKSS Research Centre, Geesthacht, Germany, 28.02.2001).
6. O’Connor, T.P., Paul, J.F. (2000). Misfit between sediment toxicity and chemistry. *Mar. Pollut. Bull.,* 40,59-64.
7. Ahlf, W., Förstner, U. (2001). Managing contaminated sediments. 1. Improving chemical and biological criteria. *J. Soils. Sediments.,* 1,30-36.
8. Alexander, M. (2000). Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environ. Sci. Technol.,* 34, 4259-4265.
9. Chapman, P.M. (1999). Risk assessment and the precautionary principle: a time and a place. *Mar. Pollut. Bull.,* 38, 944-947.
10. Basta, N., Gradwohl, R. (2000). Estimation of Cd, Pb, and Zn bioavailability in smelter-contaminated soils by a sequential extraction procedure. *J. Soil Contam.,* 9, 149-164.
11. Peijnenburg, W.J.G.M., Posthuma, L., Eijsackers, H.J.P., Allen, H.E. (1997). A conceptual framework for implementation of bioavailability of metals for environmental management purposes. *Ecotoxicol. Environ. Saf.,* 37,163-172.
12. Peijnenburg, W.J.G.M., Baerselman, R., De Groot, A.C., Jager, T., Posthuma, L., Van Veen, R.P.M. 1999. Relating environmental availability: soil-type-dependent metal accumulation in the oligocheate *Eisenia andrei. Ecotoxicol. Environ. Saf.,* 44,294-310.
13. Reinecke, A.J., Reinecke, S.A. (2003). Die beskerming van biologiese diversiteit deur gebruik te maak van die gevoeligheidsvariasie van spesies vir toksiese stowwe. *SA Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie*, 22, 94-101.
14. Suter II, G.W., Barnthouse, L.W., Breck, J.E., Gardner, R.H., O’Neill, R.V. (1985). Extrapolating from the laboratory to the field: How uncertain are you? In *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment*. Cardwell, R.D., Purdy, R., Bahner, R.C. reds. Amer Soc for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 400-413.
15. Slooff, W., Van Oers, J.A.M., De Zwart, D. (1986). Margins of uncertainty in ecotoxicological hazard assessment. *Environ. Toxicol. Chem.,* 5, 841-852.
16. Kooijman, S.A.L.M. (1987). A safety factor for LC50 values allowing for differences in sensitivities among species. *Water Res.,* 21, 269-276.

17. Van Straalen, N.M., Denneman, C.A. (1989). Ecotoxicological evaluation of soil quality criteria. *Ecotoxicol. Environ. Saf.,* 18, 241-251.
18. Van Straalen, N.M., Van Leeuwen, C.J. (2001). European history of species sensitivity distributions. In *Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology,* Posthuma, L., Suter II, G.W. eds. Setac Press, Boca Raton.
19. Ramamoorthy, S., Baddaloo, S. (1991). Evaluation of environmental data for regulatory and impact assessment. *Studies in Environ. Sci.,* 41,238.
20. Vijver, M.G. (2005). The ins and outs of bioaccumulation. Metal bioaccumulation kinetics in soil invertebrates in relation to availability and physiology. PhD-tesis. Vrije Universiteit, Amsterdam, Nederland. ISBN 903695701X.
21. Römbke, J., Moltmann, J.I. (1996). *Applied Ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton.
22. Reinecke, A.J., Van Gestel, C.A.M., Reinecke, S.A. (2004). Using biomarkers of soil organisms to determine the bioavailablity of chemicals for risk assessment and management. In *Soil Zoology for Sustainable Development in the 21st century.* SH Shakir Hanna en WZA Mikhail. eds. Festschrift. Cairo, Egypt.
23. Lanno, R., Wells, J., Conder, J., Bradham, K., Basta, N. (2004). The bioavailablity of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.,* 57, 39-47.
24. Kammenga, J.E., Riksen, J.A.G. (1996). Comparing species differences in sensitivity to toxicants: phenotypic plasticity versus concentration-response relationships. *Environ. Toxicol. Chem.,* 15, 1649-1653.
25. Spurgeon, D.J., Hopkin, S.P. (1996). Effects of variations of the oganic matter content and pH of soils on the availability and toxicity of zinc to the earthworm *Eisenia fetida. Pedobiologia,* 40, 80-96.
26. Van Straalen, N.M., Schobben, J.H.M., De Goede, R.G.M. (1998). Population consequences of cadmium toxicity in soil micro-arthropods. *Ecotoxicol. Environ. Saf*., 17, 190-204.
27. Crommentuij, T., Doodeman, C.J.A.M., Doornekamp, A., Van der Pol, J.J.C., Rademaker, M.C.J., Van Gestel, C.A.M. (1995). Sublethal Sensitivity Index as an ecotoxicity parameter measuring energy allocation under stress. Application to cadmium in soil arthropods. *Ecotoxicol. Environ. Saf.,* 31, 192-200.
28. Spurgeon, D.J., Svendsen, C., Rimmer, V.R., Hopkin, S.P., Weeks, J.M. (2000). Relative sensitivity of life-cycle and biomarker responses in four earthworm species exposed to zinc. *Environ. Toxicol. Chem.,* 19,1800-1808.
29. Posthuma, L., Suter II, G.W. eds. (2001). The use of species sensitivity distributions in ecotoxicology, CRC Press, Boca Raton.
30. Hamelink, J.L., Landrum, P.F., Bergman, H.L., Benson, W.H. (1994). Bioavailability: Physical, Chemical and Biological interactions. CRC Press, Boca Raton.
31. Jager op Akkerhuis, G.A.J.M. (1993). Physical conditions affecting pyrethoid toxicity in athropods. PhD tesis, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
32. Odendaal, J.P., Reinecke, A.J. (1999). The sublethal effects and accumulation of cadmium in the terrestrial isopod, *Porcellio laevis* Latr. (Crustacea, Isopoda). *Archiv. Environ. Contam. Toxicol.,* 36, 64-69.
33. Larson, R.J., Cowan, C.E. (1995). Quantitative application of biodegradation data to environmental risk and exposure assessments. *Environ. Toxicol. Chem.,* 14,1433-1442.
34. Belfroid, A., Van den Berg, M., Seinen, W., Hermens, J., Van Gestel, K. (1995). Uptake, bioavailability and elimination of hydrophobic compounds in earthworms (*Eisenia andrei*) in field-contaminated soil. *Environ. Toxicol. Chem.,* 14, 605-612.
35. Van Gestel, C.A.M., Ma, W. (1990). An approach to quantitative structure-activity relationships (QSARs) in earthworm toxicity studies. *Chemosphere,* 21,1023-1033.
36. Van Gestel, C.A.M. (1997). Scientific basis for extrapolating from soil ecotoxicity tests to field conditions and the use of bioassays. In *Ecological risk assessment of contaminants in soils.* Van Straalen, N.M., Løkke, H. eds. Chapman & Hall, London, pp. 25-50.
37. Van Gestel, C.A.M., Koolhaas, J.E. (2004). Water-extractability, free ion activity and pH explain sorption and toxicity to *Folsomia candida* (Collembola) in seven soil-pH combinations. *Environ. Toxicol. Chem.,* 23, 1822-1833.
38. Weltje, L. (1998). Mixture toxicity and tissue interactions of Cd, Cu, Pb and Zn in earthworms (Oligochaeta) in laboratory and field soils: a critical evaluation of data. *Chemosphere,* 36, 2643-2660.

39. Ma, W. (1996). Lead in mammals. In *Environmental contaminants in wildlife.* Beyer, W.N., Heinz, H.G., Redmon-Norwood, A.W. eds. CRC Lewis, Boca Raton, pp. 281-296.
40. Di Toro, D.M., Zarba, C.S., Hansen, D.J., Berry, W.J., Swartz, R.C., Cowan, C.E., Pavlou, S,P,, Allen, H,E,, Thomas, N,A,, Paquin, P.R. (1991) Technical basis for establishing sediment quality criteria for non-ionic organic chemicals using equilibrium partitioning. *Environ. Toxicol. Chem.,* 10, 1541-1583.
41. Van Gestel, C.A.M. (1992). The influence of soil characteristics on the toxicity of chemicals for earthworms: a review. In *Ecotoxicology of earthworms*. Greig-Smith, P.W., Becker, H., Edwards, P.J., Heimbach, F. eds. Intercept. Hants, pp. 44-54.
42. Kiewiet, A.T., Ma, W.C. (1991). Effect of pH and calcium on lead and cadmium uptake by earthworms in water. *Ecotoxicol. Environ. Saf.,* 21, 32-37.
43. Van Gestel, C.A.M., Ma, W. (1988.) Toxicity and bioaccumulation of chlorophenols in earthworms, in relation to bioavailability in soil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.,* 15, 289-297.
44. Posthuma, L., Notenboom, J. (1996). Toxic effects of heavy metals in three worm species exposed in artificially contaminated soil substrates and contaminated field soils. RIVM-report 719102048, Bilthoven, The Netherlands.
45. Ma, W. (1987). Heavy metal accumulation in the mole, *Talpa europea*, and earthworms as an indicator of metal bioavailability in terrestrial environments. *Bulll Environ. Contam. Toxicol.,* 39, 933-938.
46. Reinecke, A.J., Reinecke, S.A., Musibono, D.E., Chapman, A. (2000). The transfer of lead (Pb) from earhtworms to shrews (*Myosorex varius*). *Arch. Environ Contam. Toxicol.,* 39, 392-397.
47. Francis, A.J. (1990). Microbial dissolution and stabilization of toxic metals and radionuclides in mixed wastes. *Experientia,* 46, 840-851.
48. TCB (1992). Advies Herziening leidraad Bodembescherming 1. C-toetsingswaarden en Urgentiebeoordeling. Technical Committee on Soil Protection, The Netherlands.
49. B Bod Sch G (1998) Gesetz zum Schutz des Bodens. *Bundesgesetzblatt*, 1, 502-510.
50. Witt, K.J. (1999). Das BBodSchg in der Praxis der Altlastenbearbeitung. *Wasser und Boden,* 51,7-9.
51. Staatscourant (2000). Circulaire Streefwaarden en interventiewaarden bodemsanering, Februarie 2000, nr. 39, Nederland.
52. Wezenbeek, J.M., Crommentuijn, T. (2001). De circulaire streefwaarden en interventiewaarden bodemsanering: meer dan een paar tabellen met normen. *Bodem,* 11, 27-29.
53. Södergren, A. (1987). Solvent filled dialysis membrane simulate uptake of pollutants by aquatic organisms. *Environ. Sci. Technol.,* 21, 855-859.
54. Huckins, J.N., Tubergen, M.W., Manuweera, G.K. (1990). Semipermeable membrane devices containing model lipid: a new approach to monitoring the availability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration potential. *Chemosphere,* 20, 533-552.
55. Keddy, C.J., Greene, J.C., Bonnell, M.A. (1995). Review of whole-organism bioassays: soil, freshwater sediment, and freshwater assessment in Canada. *Ecotoxicol. Environ. Saf*., 30, 221-251.
56. Sheppard,S.C., Evenden, W.G. (1992). Bioavailability indices for uranium: effect of concentration in eleven soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.,* 23,117-124.
57. Corp, N., Morgan, A.J. (1991). Accumulation of heavy metals from polluted soils by the earthworm *Lumbricus rubellus*: can laboratory exposure of control worms reduce biomonitoring problems? *Environ. Pollut.,* 74, 39-52.
58. Van Gestel, C.A.M., Van der Waarde, J.J., Derksen, J.G.M., Van der Hoek, E.E., Martin, F.X.W., Bouwens, S., Rusch, B., Kronenburg, R., Stokman, G.N.M. (2001). The use of acute and chronic bioassays to determine the ecological risk and bioremediation efficiency of oil-polluted soils. *Environ. Toxicol. Chem.,* 20, 1438-1449.
59. Callahan, C.A., Linder, G. (1992). Assessment of contaminanted soils using earthworm test procedures. In *Ecotoxicology of earthworms*. Greig-Smith, P.W., Becker, H., Edwards, P., Heimbach, F. eds. Intercept, Hants, pp.187-196.
61. Pearson, M.S., Maenpaa, K., Pierzynski, G.M., Lydy, M.J. (2000). Effects of soil amendments on the bioavaialbility of lead, zinc and cadmium to earthworms. *J. Environ. Qual.,* 29, 1611-1617.
61. Connel, D., Lam, P., Richardson, B., Wu, R. (1999). *Introduction to ecotoxicology*. Blackwell Science, Oxford.
62. Janssen, M.P.M. (1991). Turnover of cadmium through soil athropods. PhD-thesis, Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands.
63. Hopkin, S.P. (1993). Ecological implications of '95% protection levels'for metals in soils. *Oikos,* 66,137-141.

64. Morgan, J.E., Morgan, A.J., Corp, N. (1992). Assessing soil metal pollution with earthworms: indices derived from regression analysis. In *Earthworm ecotoxicology.* Greig Smith, P.W., Becker, H., Edwards, P., Heimbach, F. reds. Intercept, Hants, pp. 233-237.
65. Van Straalen, N.M. (1999). Genetic biodiversity in toxicant-stressed populations. *Prog. Environl. Sc.,* 1,2, 195-201.
66. Van Straalen, N.M., Van Wensem, J. (1986). Heavy metal content of forest litter arthropods as related to body-size and trophic level. *Environ. Pollut.,* (Ser A) 42, 209-221.
67. Lanno, R., LeBlanc, S., Tymowski, R., Fitzgerald, D. (1998). Application of body residues as tool in the assessment of soil toxicity. In *Advances in Earthworm Ecotoxicology.* Sheppard, S., Bembridge, J., Holmstrup, M., Posthuma, L. eds. Setac Press, Pensacola, pp. 41-53.
68. Smit, C.E., Van Gestel, C.A.M. (1998). Effects of soil type, prepercolation, and ageing on bioaccumulation and toxicity of zinc for the springtail *Folsomia candida*. *Environ. Toxicol. Chem.,* 17, 1132-1141.
69. Aldenberg, T., Slob, W. (1993). Confidence limits for hazardous concentrations based on logistically distributed NOEC toxicity data. *Ecotoxicol. Environ. Saf.,* 25, 48-63.
70. Van Wensem, J., Vegter, J.J., Van Straalen, N.M. (1994). Soil quality criteria derived from critical body concentrations of metals in soil invertebrates. *Appl. Soil. Ecol.* 1, 185-191.
71. Vijver, M.G., Van Gestel ,C.A.M., Lanno, R.P., Van Straalen, N.M., Peijnenburg, W.J.G.M. (2004). Internal metal sequestration and its ecotoxicological relevance: a review. *Environ. Sci. Technol.,* 38, 4705-4712.
72. Slijkerman, D.M.E., Van Gestel, C.A.M., Van Straalen, N.M. (2000) *Conceptueel kader voor de afleiding van ecotoxicologische risicogrenzen voor essentiele metalen.* Rep. D00020, Institute of Ecological Science, Vrije Universiteit, Amsterdam.Nederland.
73. Ahlers, J., Diderich, R. (1998). Legislative perspective in ecological risk assessment. In *Ecotoxicology.* Schuurmann, G., Markert, B. reds. John Wiley, New York, pp. 841-868.
74. Kammenga, J.E., Van Gestel, C.A.M., Hornun,g E. (2001). Switching of life-history sensitivities to stress in soil invertebrates. *Ecol. Applicat.,* 11, 226-238.
75. Forbes, V.E., Forbes, T.L. (1994). *Ecotoxicology in theory and practice*. Chapman & Hall, London.
76. Van Straalen, N.M., Løkke, H. (1997). Ecological approaches to soil ecotoxicology. In *Ecotoxicological risk assessment of contaminants in soil.* Van Straalen, N.M., Løkke, H. eds. Chapman & Hall, London, pp.3-21.
77. Kammenga, J.E., Korthals, G.W., Bongers, T., Bakker, J. (1997). Reaction norms for life-history traits as the basis for the evaluation of critical effect levels of toxicants. In *Ecological risk assessment of contaminants in soil.* Van Straalen, N.M., Lokke, H. eds. Chapman & Hall, London.
78. Van Gestel, C.A.M, Van Brummelen, T.C. (1996). Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition in terms. *Ecotoxicology,* 5, 217-225.
79. Weeks, J.M. (1995). The value of biomarkers for ecological risk assessment: academic toys or legislative tools? *Appl. Soil. Ecol.,* 2, 215-216.
80. Kammenga, J.E., Dallinger, R., Donker, M.H., Kohler, H.R., Simonsen, V., Triebskorn, R., Weeks, J.M. (2000). Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.,* 164, 93-147.
81. Eijsackers, H. (1997). Soil ecotoxicology: still new ways to explore or just paving the road? In *Ecotoxicological risk assessment in soils.* Van Straalen, N.M., Løkke, H. eds. Chapman & Hall, London, pp. 323-330.
82. Weeks, J.M. (1997). Effects of pollutants on soil invertebrates: links between levels. In *Ecotoxicology. Ecological fundamentals, chemical exposure, and biological effects.* Schuurmann, G., Markert, B. eds. John Wiley, New York, pp. 645-662.

CURRICULA VITAE

A.J. (Koot) Reinecke is professor in die Departement Plant- en Dierkunde aan die Universiteit van Stellenbosch waar hy sedert 1992 werksaam is en verskeie termyne as voorsitter opgetree het. Hy behaal sy doktorsgraad in 1976 onder studieleiding van die Havengapryswenner prof. P.A.J. Ryke aan die destydse Potchefstroomse Universiteit vir CHO waar hy vanaf 1969 dosent en vanaf 1986 tot 1991 ook hoof van die Departement Dierkunde was. Hy het reeds as president van die Internasionale Gronddierkundige Vereniging, die Dierkundige Vereniging van Suid-Afrika en die Gesamentlike Raad van Natuurwetenskaplike Verenigings gedien en as visepresident van die Suid-Afrikaanse Raad van Natuurwetenskaplike Professies. Hy het gedurende 2004/5 as Dekaan van Natuurwetenskappe waargeneem. Hy is tans lid van die Onderwysadvieskomitee van SARNAP. Hy het uitgebreide studieperiodes in die VSA, Duitsland en Nederland deurgebring. Sy navorsingsbelangstelling is in die omgewingstoksikologie. Hy bestudeer die invloed van chemiese besoedelstowwe op diere, met besondere klem op die grondomgewing. Hy het reeds as studieleier vir meer as 30 MSc- en 12 PhD-studente opgetree. Hy is outeur en mede-outeur van meer as 140 publikasies in geakkrediteerde, wetenskaplike vaktydskrifte. Hy het ook verskeie teksboeke in Afrikaans gepubliseer. Sy navorsing word gefinansier deur die Nasionale Navorsingstigting, die Universiteit van Stellenbosch en die Volkswagen Stigting in Duitsland.

Sophie Reinecke is tans medeprofessor in die Departement Plant- en Dierkunde aan die Universiteit van Stellenbosch waar sy sedert 1992 werksaam is. Sy behaal haar honneursgraad in dierkunde, M.Sc. en doktorsgraad in Dierkunde (1987) aan die Randse Afrikaanse Universiteit nadat sy haar voorgraadse studies en eerste honneursgraad in Plantkunde aan die PU vir CHO behaal het. Vir haar meestersgraad het sy die S2A3 en Junior Kaptein Scott-medaljes ontvang. Gedurende haar jare as senior lektor aan die PU vir CHO verwerf sy die universiteitstoekenning vir voortreflike onderrig. Sy was verskeie jare lid en sekretaris van die Raad van die Dierkundige Vereniging van Suidelike-Afrika. Haar navorsingsbelangstelling is in die ekotoksikologie en behels die invloed van chemiese besoedelstowwe op diere, met besondere klem op die biochemiese, molekulêre en sellulêre biomerkerresponse by ongewerweldes. Sy het reeds as studieleier van 15 MSc- en 4 PhD-studente opgetree en lei tans vier meesters en een doktorsgraadstudent in ekotoksikologie. Sy is outeur en mede-outeur van meer as 60 publikasies in geakkrediteerde vaktydskrifte. Sy het ook reeds meer as 50 bydraes by internasionale konferensies in verskeie lande gelewer. Haar navorsing word gefinansier deur die Nasionale Navorsingstigting, die Universiteit van Stellenbosch en die Volkswagen Stigting in Duitsland en sy het onlangs 'n toekenning van die Nederlandse Nasionale Wetenskapstigting (NWO) ontvang om vir drie maande aan die Vrije Universiteit van Amsterdam navorsing te doen.