

Bildschaffende Methoden

Im Juni 2003 fand die jährliche Tagung «Bildschaffende Methoden» im Forschungsinstitut am Goetheanum in Dornach, Schweiz, statt. In den folgenden Beiträgen haben die Referentinnen und Referenten ihre Darstellungen zusammengefasst. Kurzreferate und Diskussionsbeiträge konnten leider nicht berücksichtigt werden. Das Referat von Haijo Knijpenga und Beatrix Waldburger ist im Beitrag «Versuchsdesign für Untersuchungen an Pflanzenblättern mit der Methode der Empfindlichen Kristallisation» in diesem Heft mit enthalten.

Bestimmung der Zeitabhängigkeit der Kristallisationsvorgänge bei der Kupferchloridkristallisation als eine Voraussetzung zur Validierung der Methode

*Johannes Kahl, Nicolaas Busscher, Gaby Mergardt, Jens-Otto Andersen,
Machteld Huber, Angelika Meier-Ploeger*

Problemstellung

Das Interesse der Verbraucher an gesunden und sicheren Lebensmitteln wächst (*Hamm et al.* 2002). Damit gehört das Vertrauen in die Sicherheit der ökologischen Produkte und die Annahme, dass diese einen wichtigen Beitrag zur eigenen Gesundheit leisten, zu den wichtigsten Kaufmotiven von Verbrauchern. Nimmt man die Ansprüche der Verbraucher als Maßstab für die Bewertung der ökologischen Lebensmittelqualität, so muss neben der prozessbezogenen Qualität (Bio-Gütesiegel, Öko-Verordnung EWG-2092/91) die produktbezogene Qualität wieder stärker berücksichtigt und bewertet werden. Diese lässt sich allerdings in ihrer Gesamtheit nur als Summe ausgewählter Einzelbestimmungen (z.B. Vitamine) messen. In der vergleichenden produktbezogenen Qualitätsforschung mit ökologisch und konventionell angebauten und verarbeiteten Lebensmitteln kommen verstärkt neue Methoden zum Einsatz, die als fehlender Teil komplementär zu den analytischen Stoffnachweisen gesehen werden. Dabei wird angenommen, dass die Bestimmung äußerer und innerer Qualitätsparameter nur Teilas-

pekte der Qualität erfasst, während mit den komplementären Methoden eine «ganzheitliche» Aussage («das Ganze ist mehr als die Summe seiner Teile») gemacht werden kann (Meier-Ploeger/Vogtmann 1991). Dazu wird argumentiert, dass eine komplementäre Qualitätsbestimmung vor allem die Ordnungs- und Strukturierungsfähigkeit eines Lebensmittels erfasst (Meier-Ploeger/Vogtmann 1991).

Warum Validierung?

Die Methode der Kupferchloridkristallisation wird erfolgreich zur ganzheitlichen Qualitätserfassung von Lebensmitteln eingesetzt (Balzer-Graf 1994, Andersen et al. 2001). Damit können nach Aussage dieser Autorinnen und Autoren sowohl der Einfluss unterschiedlicher Anbausysteme als auch diverser Verarbeitungsschritte in Pflanzen und pflanzlichen Produkten nachgewiesen werden. Für den Einsatz der Methode zur Qualitätserfassung ökologischer Produkte im Routinebetrieb muss die Methode validiert werden, ansonsten sind die Ergebnisse weder allgemein wissenschaftlich anerkannt noch juristisch verwertbar. Validierung bedeutet die Prüfung, ob eine bestimmte Fragestellung mittels der Methode eindeutig beantwortet werden kann (Kromidas 2000, DIN ISO 17025). Der methodische Ansatz (Kahl et al. 2002) wird von der Fragestellung bestimmt. Bei dem hier gewählten Ansatz aus der Forderung nach Verfahrens- und Methodvalidierung gibt es vier verschiedene Möglichkeiten, die Qualitätsuntersuchungen zu vergleichen: durch Bestimmung der Wiederholpräzision (*repeatability*), der Laborpräzision (*intermediate precision*), der Vergleichspräzision (*reproducibility*) oder der Methodenrobustheit (*robustness*) (vgl. Kromidas 2000).

Um diese Verfahrensmerkmale bestimmen zu können, sind notwendig:

1. definiertes Probenmaterial in ausreichender Menge;
2. dokumentierte Prozesse im Labor;
3. statistische Auswertung der Ergebnisse;
4. mehr als drei Laboratorien, die mit der Methode arbeiten.

Diese Bestimmungen sind aus den bisher veröffentlichten Arbeitsergebnissen zur Kupferchloridkristallisation anderer Autoren nicht möglich. Der Anspruch an die Methode ist dabei:

- sie ist objektiv, d.h. das Ergebnis kann unabhängig von der Person des Auswertenden eindeutig festgestellt werden;
- sie ist zuverlässig, d.h. bei Wiederholungen liegen gleiche Resultate vor;
- sie ist in einem vorgegebenen Rahmen gültig, d.h. das Ergebnis spiegelt die für die Fragestellung wesentlichen Eigenschaften wider.

Die Kupferchloridkristallisation kann nach Meinung der Autorinnen und Autoren als Verfahren nach den Vorgaben der DIN ISO 17025 validiert werden. Es lassen sich Verfahrensmerkmale wie Präzision und Robustheit bestimmen.

Methoden

Lebensmittelproben

Die Verfahrens- und Methodvalidierung soll mit biologischem Probenmaterial aus definierten Anbauversuchen wie dem DOK-Versuch (Vergleich von biologisch-dynamischem, ökologischem und konventionellem Anbau, FIBL/CH) durchgeführt werden. Das Probenmaterial liegt in ausreichender Menge vor und wird von einer unabhängigen Stelle kodiert und versendet. Lebensmittelproben unterliegen aber einer natürlichen Veränderung mit der Zeit und scheiden somit für eine mehrjährige systematische Untersuchung aus. Für die hier vorgestellten Untersuchungen wurden Möhrenproben aus dem ökologischen Handel verwendet.

Chemische Substanzen

Zur Kristallisation können auch chemische Substanzen verwendet werden, deren Verhalten mit dem der biologischen Proben im Prozessschritt «Kristallisation» verglichen werden kann (*Morris/Morris, 1939, Ballivet et al. 1999*). Als Referenzsubstanz wurde für die hier beschriebenen Untersuchungen das Molekül Polyvinylpyrrolidon (PVP) eingesetzt, das bereits erfolgreich mit der Methode getestet wurde (*Andersen et al. 1998*).

Kristallisation

Im Falle der Kupferchloridkristallisation kristallisiert eine wässrige Kupferchloridlösung in einem typischen Muster (*Beckmann 1959*). Zusätze, z.B. Pflanzenextrakte, beeinflussen dieses Muster charakteristisch, wobei das Muster (Strukturelemente: Verästelung, Hohlformen, Nadeldicke etc.) konzentrationsabhängig ist (*Petterson 1967, Engquist 1970, Selawry/Selwary 1957*). Für jedes Probenmaterial (z.B. Möhren, Getreide) lässt sich ein bestimmtes Mischungsverhältnis ermitteln, bei dem sich das Muster von dem anderer Proben unterscheidet (*Balzer-Graff/Balzer 1991*). Die Unterscheidung lässt sich mit der Optimierung der experimentellen Randbedingungen verbessern, wobei Temperatur und Feuchte die wichtigsten Einflussgrößen für die Kristallisation sind (*Andersen 2001, Ballivet et al. 1999*). Damit erhält man ein für jedes Probenmaterial charakteristisches Kristallmuster. Die Untersuchungen zum Einfluss des Mischungsverhältnisses auf definierte Strukturelemente des Kristallmusters sind bereits dargestellt worden (*Andersen et al. 2003*).

Klimakammern

Die Kristallisation geschieht in eigens dafür konstruierten Klimakammern, deren Verdampfungseinheit erschütterungsfrei aufgebaut wird (nähere Beschreibung der Kammern, siehe *Andersen 2001*). In einer Neuentwicklung fügte Andersen einen zweiten Ring zu, sodass 43 Platten pro Durchgang untersucht werden können (vgl. *Busscher et al. 2003*). Die eigentliche Verdampfungseinheit befindet sich in einem Raum (Außenkammer), dessen Klimaparameter Temperatur und Feuchte ebenfalls konstant gehalten werden. Die Klimakonditionen der Verdampfungseinheit und der Außenkammer werden an verschiedenen Stellen kontinuierlich gemessen und

online überwacht. Zwei Sensoren befinden sich über den eigentlichen Kristallringen der Verdampfungseinheit und je ein Sensor an der Innen- und Außenwand der Kristallisationskammer. Zusätzlich werden mit Hilfe einer Wetterstation die zum Zeitpunkt der Untersuchung herrschenden Wetterdaten kontinuierlich aufgezeichnet. Die Dokumentation der jeweiligen Prozessschritte und die Erfassung der Bedingungen während der Probensequenz wird computerunterstützt erfasst.

Bildauswertung

Die visuelle Auswertung der Bilder nach definierten Kriterien (Strukturelemente) wird durch eine computergestützte Texturanalyse ergänzt. Für die computergestützte Bildauswertung werden die Bilder gescannt und die Textur über eine Transformation der Graustufenverteilung statistisch analysiert (*Andersen et al.* 1999).

Die Ermittlung der Verfahrensmerkmale wird in drei für dieses Vorhaben zusammengeschlossenen Laboratorien mit vier baugleichen Kammern (je eine am Louis-Bolk-Instituut/NL und in Hertha/DK, zwei an der Universität Kassel/D) durchgeführt. Die Koordination dieses «triangle»-Projektes liegt an der Universität Kassel. Alle drei Laboratorien verwenden dieselben dokumentierten Prozeduren für alle Verfahrensschritte.

Ergebnisse

Dokumentation

Es wurden für jeden Prozessschritt normative Dokumente entwickelt, die jeden einzelnen Prozessschritt beschreiben. Entsprechende nationale und internationale Normen für das Arbeiten in Laboratorien dienen dabei als Vorbild für den Aufbau der Dokumente, wobei die Besonderheiten der Methode in allen Schritten besonders berücksichtigt wurden.

Die computerunterstützte Labordokumentation (siehe Abb. 1) ermöglicht eine detaillierte Rückverfolgung von jedem Ergebnis einer Qualitätsbestimmung. Die Einwaagen der Substanzen und Proben sowie das Volumen der pipettierten Lösungen werden dabei mit den Positionen auf dem Kristallisationsring und den Bedingungen während der Kristallisation zu einem Dokument verbunden. Die vorgegebenen Volumina auf der jeweiligen Platte und das Mischungsverhältnis von Stoff und Kupferchlorid bestimmen automatisch die jeweiligen Lösungsansätze für die durchführende Person.

Klimakammer

Es wurde eine Klimaregelung entwickelt, die es erlaubt, die Klimakonditionen auf dem Ring und in der Außenkammer unabhängig von der wetterbedingten Schwankung der Außenfeuchte konstant zu halten. Die Temperatur der Kristallisationsringe und die Temperatur und Feuchte der Außenkammer können auf $\pm 0,1$ °C und $\pm 0,5$ % rh genau eingestellt werden (siehe Abb. 2, nächste Seite). Die Spitzen im Verlauf der Feuchte auf dem Ring (g/d) bzw. der Innenwand (f) sind die Ver-

LABDOC - Documentation Help for Crystallization Research, Version 3.0.4.12 from 25. November 2001

series_name JK

description Test Chamber and Cleaning

who_in_charge mp.nh

year 2001 month 04 day 25

Sensor Nr. Plate Nr. par X centz. y height z

01	38			
02	6			
03	34			

Basic Solutions/Juices

Nr	Group	Supplier	Subst. in	Sol. in gr	Procedure	Production Date
01	CuCl2	Merck	20.0	200.0	Recycling R	year 2001 month 04 day 09
02	PVP	mw 700	0.2	200.0	kopenhagen	year 2001 month 04 day 09

Chamber Solutions

CNF	BNr	Group	Supplier	Substmg	CuCl2/mg	Vol/ml	Rep	Post	Subst in ml	CuCl2 in ml	H2O in ml
01	01	CuCl2	Merck	0.0	180	6.5	3	5	0.0	9.0	23.5
02	02	PVP	mw 700	0.2	45	6.5	20	25	5.0	11.25	146.25
03	02	PVP	mw 700	0.6	45	6.5	20	25	15.0	11.25	138.25

Chamber Solutions and Dishes Numbers

Place following

01 01	02 02	03 03	04 01	05 02	06 03	07 01	08 02	09 03	10 02	11 01
12 02	13 03	14 02	15 03	16 02	17 03	18 02	19 03	20 02	21 03	22 02
23 03	24 02	25 03	26 02	27 03	28 02	29 03	30 02	31 03	32 02	33 03
34 02	35 03	36 02	37 03	38 02	39 03	40 02	41 03	42 02	43 03	

Plate

Nr	Material	Cleaning Proc.	Juiced Bet	Material	Cleaning Proc.
01	glass	nertha 05 2001	0	acryl	nertha 05 2001

Ring

Set All like Plate 1

Start and End Pipetting Time

Start time Set year 2001 month 4 day 25 hour 13 minute 35 second 0

End time Set year 2001 month 4 day 25 hour 13 minute 43 second 0

Print Plan Save Input Time Observ. Make Browser Doku. Mat.+ Clean. Dish SCAN Help

Abb. 1: Datenblatt der computerunterstützten Labordokumentation

dampfungscurven eines Kammerdurchsatzes. Mit der Labordokumentation können zusätzlich die (manuell zu ermittelnden) Zeiten des Kristallisationsbeginns in Abhängigkeit von den beiden Kristallisationsringen und den Positionen auf dem jeweiligen Ring in Beziehung gesetzt werden. Damit können mögliche Unterschiede sowohl zwischen den Ringen als auch in den Positionen bestimmt werden (zur Ermittlung der Wiederholpräzision).

Die Bedingungen der Außenkammer beeinflussen die Bedingungen auf dem Ring. Mit der Regelung der Bedingungen der Außenkammer und der «Abdeckung» des Wasserreservoirs unter dem Ring können die Starkbedingungen für jeden Kristallisationsdurchgang vorgegeben werden. Steuergröße ist der mittlere Kristallisationsbeginn der Platten über alle Positionen beider Ringe, die für jede Messung und jede Kammer eingestellt werden können. Die Einstellung erfolgt über die Änderung der Feuchte in der Außenkammer. Die statistische Korrelation zwischen der eingestellten Feuchte in der Außenkammer und der ihr folgenden Feuchte auf dem Ring konnte aufgrund von Hystereseeffekten noch nicht erfolgen.

Der Beginn der Kristallisation innerhalb der 43 Positionen bei einer Messung erfolgt nicht zur gleichen Zeit, sondern folgt einer statistischen Verteilung, die unabhängig von der jeweiligen Position der Platte auf dem Ring ist. Sowohl PVP als auch Möhrenproben zeigen eine solche Verteilung, wobei sowohl die Konzentration als auch das Probenmaterial die Art und Weise des Kurvenverlaufs beeinflussen. In Abbildung 3 ist die kumulative Anzahl von Platten, die bereits mit der Kristallisation begonnen haben, in Abhängigkeit von der Zeit nach Beginn der Verdampfung

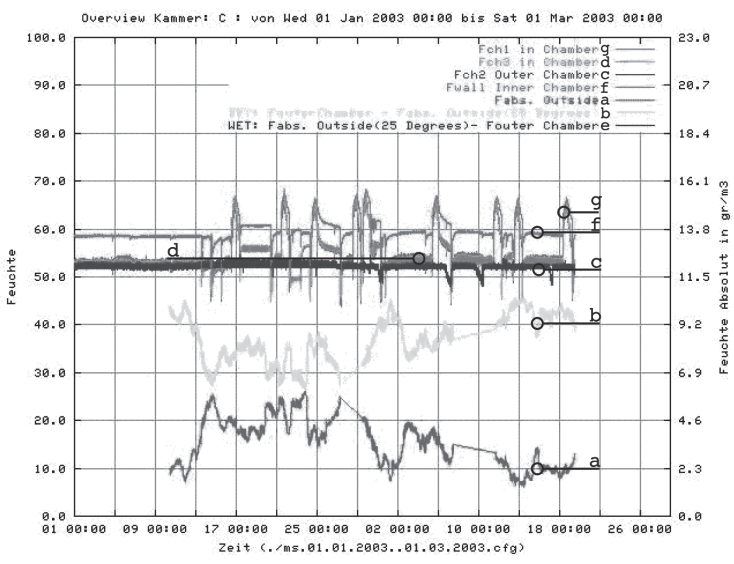
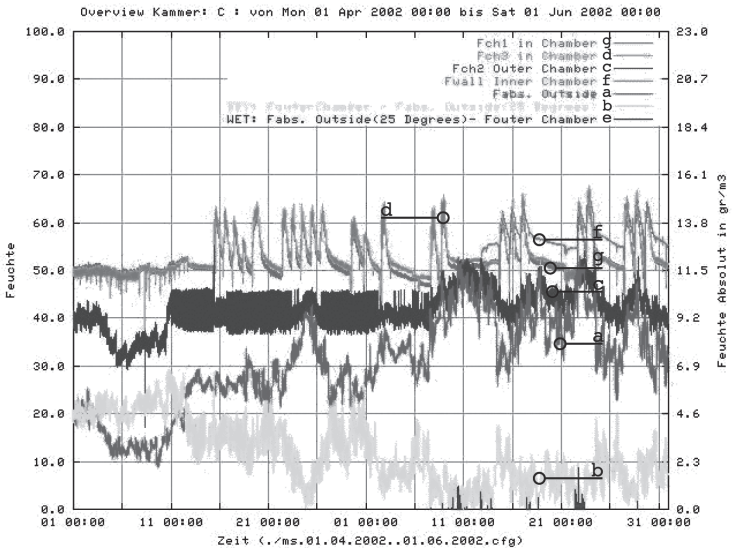


Abb. 2: Relative Feuchte (%) auf dem Ring (r/g) und in der Außenkammer (c) vor (oben) und nach (unten) Einführung der präzisen Regelung

für jeweils gleiche Kammerbelegung (PVP, Möhrenproben je 50 % Kammerbelegung) dargestellt. Die Kristallisation kann beginnen, wenn die Sättigungskonzentration überschritten und nachdem die entsprechende Menge Wasser verdampft ist.

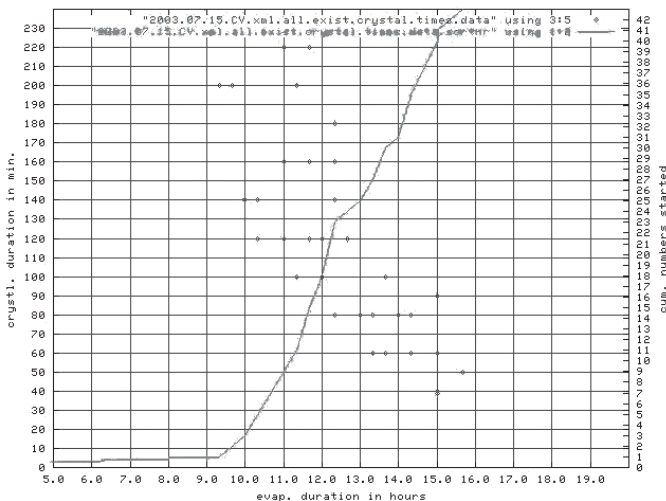


Abb. 3: Kumulative Anzahl der bereits begonnenen Platten in Abhängigkeit von der Zeit nach dem Pipettieren (Punkte: Dauer der Kristallisation pro Platte)

Der Zeitpunkt des Kristallisationsbeginns ist für gleiche Kammerbelegung abhängig von der auf dem Kristallisationsring herrschenden relativen Feuchte (Korrelation $r^2 = 0,97$). Je höher die Feuchte, desto später liegt der Start der Kristallisation (mittlere Dauer). Eine Änderung von 6 % relativer Feuchte auf dem Ring bewirkt eine Verschiebung der Zeiten um bis zu sechs Stunden. Ob dies ausschließlich mit der Feuchte zusammen hängt, muss untersucht werden. Auch die statistische Verteilung des Kristallisationsbeginns für die 43 Positionen ist abhängig von der auf dem Ring eingestellten relativen Feuchte. Je höher die relative Feuchte, desto breiter wird die Verteilung des Kristallisationsbeginns innerhalb einer Kammer (Korrelation $r^2 = 0,89$). Der Einfluss von unterschiedlichem Probenmaterial wurde bisher nicht untersucht.

Die Zeit bis zum Beginn der Kristallisation beeinflusst das Kristallbild. Je länger die Verdampfungsphase dauert (bedingt durch steigende relative Startfeuchte auf dem Ring), desto größer wird der Strukturdurchmesser. Eine logarithmische Auftragung des Strukturdurchmessers gegen die Zeit des Kristallisationsbeginns für zwei unterschiedliche PVP-Probenkonzentrationen mit gleicher Kupferchlorid-Konzentration ergab eine Korrelation von $r^2 = 0,61$ bzw. $0,55$.

Die Art der Zunahme (Kurvenverlauf) des Strukturdurchmessers mit zunehmender Verdampfungszeit (bis zum Beginn der Kristallisation) ist für PVP und Möhrenproben verschieden, wie in Abbildung 4 gezeigt wird (es wurde der prozentuale Strukturdurchmesser bestimmt, wobei 100 % bedeutet, dass das Kristallmuster über die gesamte Plattenfläche von einem oder mehreren Zentren aus strukturiert ist). Für Möhrenproben scheint es einen «empfindlichen» Bereich der Verdampfungszeit zu geben, in dem sich der Strukturdurchmesser stark ändert. Welche weiteren Faktoren die Bildgestalt beeinflussen, muss untersucht werden.

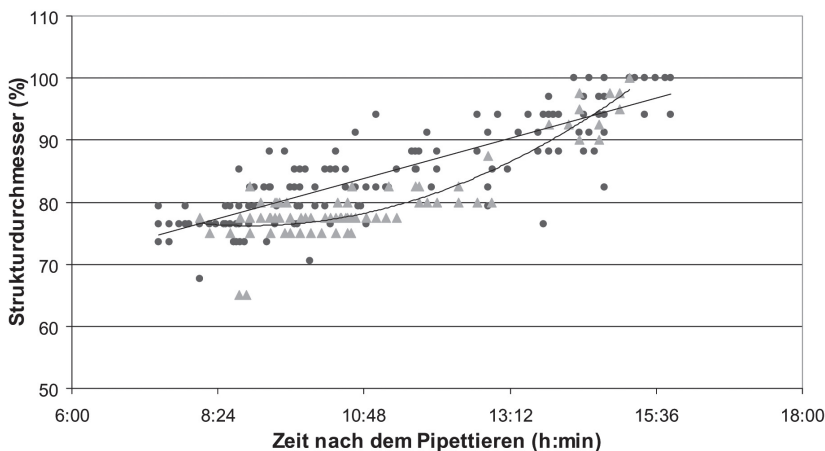


Abb. 4: Abhängigkeit des Strukturdurchmessers von PVP (Punkt)- und Möhrenproben(Dreieck)mustern von der Zeit zwischen Pipettieren der Lösung und dem Beginn der Kristallisation

Die Forschungen zum Einfluss der Kammerbedingungen auf die computergestützte Bildauswertung stehen noch aus und werden Gegenstand weiterer Untersuchungen an definiertem Probenmaterial sein. Hier steht die Frage nach der Reduzierung der Streuung durch den Kristallisationsvorgang und damit nach der Verbesserung des Trennungsvermögens der Methode im Vordergrund.

Fazit

In der vorliegenden Arbeit wird der wissenschaftliche Ansatz zur Validierung der Methode beschrieben und der Einfluss der Kammerbedingungen auf den Vorgang der Kristallisation systematisch untersucht und statistisch ausgewertet. Die Klimakonditionen haben einen signifikanten Einfluss auf den Kristallisationsvorgang, sowohl innerhalb eines Kammerdurchgangs als auch im Vergleich zwischen zwei Kammerdurchgängen. Bei der Einstellung der Startfeuchte auf dem Ring variieren die Feuchtenwerte, die dafür erreicht werden müssen, von Kammer zu Kammer;

weitere Untersuchungen werden zeigen, ob dies auf die unterschiedlichen Abstände beim Aufbau der Kammern (bis zu 2 Jahre Differenz) an den einzelnen Orten zurückzuführen ist (Adaption des Werkstoffes).

Eine Vergleichbarkeit von Qualitätsuntersuchungen mit der Kupferchloridkristallisation ist aus unserer Sicht möglich, wenn die experimentellen Randbedingungen bekannt und kontrolliert oder gemessen werden können. Die Festlegung der Prozessschritte in normativen Dokumenten und die Verfolgung der gesamten Probensequenz ist möglich und eine weitere Voraussetzung, um Qualitätsuntersuchungen mit der Kupferchloridkristallisation vergleichen zu können. Die hier vorgelegten Untersuchungen zur Methodenrobustheit im Prozessschritt Kristallisation erlauben die Ermittlung der Wiederhol- und Laborpräzision und sind damit Voraussetzung, um die Vergleichspräzision mit der Durchführung von Ringversuchen ermitteln zu können. Das Problem einer fehlenden Bezugsnormale (und damit der Überprüfung der Richtigkeit) bleibt davon unberührt.

Die Autorinnen und Autoren danken der Firma Eosta, der Iona Stiftung, Mrs. und Mr. Kindersley, der Software AG Stiftung und der Triodos Stiftung für die finanzielle Unterstützung des Vorhabens.

Literatur

- Andersen, J.-O. (2001): Development and application of the biocrystallisation method. Biodynamic Research Association, Denmark, Bericht 1.
- Andersen, J.-O. et al. (1999): Computerised image analysis of biocrystallograms originated from agricultural products. Computers and electronics in agriculture 22, S. 51–69.
- Andersen, J.-O. et al. (2001): Comparative study between biocrystallisation and chemical analysis of carrots (*Daucus carota* L.) grown organically using different levels of green manures. Biological Agriculture and Horticulture 19, S. 29–48.
- Andersen, J.-O., Laursen, J., Kolster, P. (1998): A refined biocrystallisation method applied in a pictomorphological investigation of a polymer. Elemente d. N. 68, S. 1–20.
- Andersen, J.-O. et al. (2003): A concentration matrix procedure for determining optimal combinations of concentrations in biocrystallization. Elemente d. N. 79, S. 97–114.
- Ballivet, C. et al. (1999): Zur Empfindlichkeit der Methode der Kupferchloridkristallisation. Elemente d. N. 70, S. 1–32.
- Balzer-Graf, U. (1994): Die Qualität ökologisch erzeugter Produkte. In: Ökologischer Landbau. Perspektiven für die Zukunft (Mayer et al. Hg.), Stiftung Ökologie und Landbau, S. 261–290.
- Balzer-Graf, U., Balzer, F. (1991): Steigbild und Kupferchloridkristallisation. Spiegel der Vitalaktivität von Lebensmitteln. In: Meier-Ploeger/Vogtmann, S. 163–210.
- Beckmann, H. (1959): Über Keimbildung, Einkristallwachstum und Auffächerungswachstum von $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in rein wässrigen und eiweißhaltigen Lösungen. Dissertation Universität Bonn.
- Busscher, N. et al. (2003): Vergleichbarkeit von Qualitätsuntersuchungen mit den Bildschaffenden Methoden (Kupferchloridkristallisation). Beiträge zur 7. Wissenschaftstagung zum Ökologischen Landbau, Wien, S. 217–220.
- DIN 17025 (Hg.) (2000): DIN EN ISO IEC 17025. Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien. Europäisches Komitee für Normung, Berlin.
- Engquist, M. (1970): Gestaltkräfte des Lebendigen. Frankfurt/M.
- Hamm, U., Gronefeld, F., Halpin, D. (2002): Analysis of the european market for organic food. Organic Centre Wales.
- Kahl, J., Busscher, N., Meier-Ploeger, A. (2002): Von der Pflanze zum Bild. Motivation zur Arbeitstagung

- «Bildschaffende Methoden» in Witzenhausen. Elemente d. N. 77, S. 112–113.
- Kromidas, S.* (Hg.) (2000): Handbuch Validierung in der Analytik. Wiley-VCH, Weinheim.
- Meier-Ploeger, A., Vogtmann, H.* (Hg.) (1991): Lebensmittelqualität. Ganzheitliche Methoden und Konzepte. Schriftenreihe der Stiftung Ökologie und Landbau 66, Karlsruhe.
- Morris, D. L., Morris, C. T.* (1939): Specific effects of certain tissue extracts on the crystallisation pattern of cupric chloride. *J. Phys. Chem.* 43, S. 623–629.
- Pettersson, B. D.* (1967): Beiträge zur Entwicklung der Kristallisationsmethode mit Kupferchlorid nach Pfeiffer. *Lebendige Erde* 18, S. 15–31.
- Selwary, A., Selwary, O.* (Hg.) (1957): Die Kupferchloridkristallisation in Naturwissenschaft und Medizin. Stuttgart.
- Soil Association* (Hg.) (2001): Organic Farming, food quality and human health. Soil Association, Bristol.

Johannes Kahl, Nicolaas Busscher, Gaby Mergardt, Angelika Meier-Ploeger
Universität Kassel
Fachgebiet Ökologische Lebensmittelqualität und Ernährungskultur
Nordbahnhofstr. 1a
D-37213 Witzenhausen
kahl@wiz.uni-kassel.de

Jens-Otto Andersen
Biodynamic Research Association
Landsbyvænget 7B
Herskind
DK-8464 Galten

Machtheld Huber
Louis-Bolk-Instituut
Hoofdstraat 24
NL-3972 Driebergen