

Ministerieel besluit tot goedkeuring van het compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC) en tot wijziging van bijlage 4.2.5.2 bij het besluit van de Vlaamse Regering van 1 juni 1995 houdende algemene en sectorale bepalingen inzake milieuhygiëne

Rechtsgronden

Dit besluit is gebaseerd op:

- het decreet van 5 april 1995 houdende algemene bepalingen inzake milieubeleid, artikel 5.4.1, ingevoegd bij het decreet van 25 april 2014, en artikel 5.6.5, ingevoegd bij het decreet van 25 april 2014 en gewijzigd bij het decreet van 8 december 2017;
- het besluit van de Vlaamse Regering van 1 juni 1995 houdende algemene en sectorale bepalingen inzake milieuhygiëne, artikel 1.1.2, het laatst gewijzigd bij het besluit van de Vlaamse Regering van 10 juni 2022, en artikel 1.2.1.1;
- het besluit van de Vlaamse Regering van 19 november 2010 tot vaststelling van het Vlaams reglement inzake erkenningen met betrekking tot het leefmilieu, artikel 45, §1, tweede lid, ingevoegd bij het besluit van de Vlaamse Regering van 3 mei 2019.

Vormvereisten

De volgende vormvereisten zijn vervuld:

- De afdeling Gebiedsontwikkeling, Omgevingsplanning en -projecten van het Departement Omgeving heeft een voorstel tot wijziging van het compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC) gedaan op (datum);
- De Vlaamse Toezichtcommissie voor de verwerking van persoonsgegevens heeft advies nr. ... gegeven op (datum);
- Dit ontwerp werd op (datum) meegedeeld aan de Europese Commissie, met toepassing van artikel 5 van richtlijn (EU) 2015/1535 van het Europees Parlement en de Raad van 9 september 2015 betreffende een informatieprocedure op het gebied van technische voorschriften en regels betreffende de diensten van de informatiemaatschappij;
- De Raad van State heeft advies ... gegeven op (datum), met toepassing van artikel 84, §1, eerste lid, 2°, van de wetten op de Raad van State, gecoördineerd op 12 januari 1973;
- De Gegevensbeschermingsautoriteit heeft het advies nr. ... gegeven op (datum).

Motivering

Dit besluit is gebaseerd op de volgende motieven:

- Ten gevolge van internationale en Vlaamse ontwikkelingen en recent onderzoek zijn aanpassingen aan een aantal bestaande methoden en de opname van nieuwe methoden in het compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC) noodzakelijk.
- Volgens artikel 45 van het VLAREL passen erkende laboratoria voor de monsternemingen, beproevingen, metingen en analyses waarvoor ze erkend zijn, de methoden toe van de compendia voor water (WAC), lucht (LUC), bodembescherming (BOC), het mestdecreet (BAM) en het materialen- en bodemdecreet (CMA). Tussen de compendia bestaan er kruisverwijzingen.
- Om praktische, organisatorische en juridische redenen voor zowel de laboratoria, de overheid als de opdrachtgevers is eenzelfde datum van inwerkingtreding voor alle compendia aangewezen. Als datum wordt 15 januari 2024 vooropgesteld. De laboratoria zijn op de hoogte gebracht van het nieuwe compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC), dat online geraadpleegd kan worden.
- Om titel II van het VLAREM af te stemmen op de voorgestelde en reeds doorgevoerde wijzigingen aan het compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC) worden een reeks analoge wijzigingen doorgevoerd in de organische parameters in artikel 4, §1, van bijlage 4.2.5.2 bij titel II van het VLAREM.
- De verwerking van de persoonsgegevens van de monsternemer zijn rechtmatig op basis van artikel 6, 1, c) en e) algemene verordening gegevensbescherming, met name de wettelijke verplichting om voorwaarden vast te stellen ter bescherming van de mens en het milieu tegen bepaalde vormen van hinder en risico's afkomstig van (niet-)ingedeelde inrichtingen of activiteiten en gebruikseisen vaststellen, alsook de nadere regels voor de schorsing of het verval van rechtswege van de erkenningen. De verwerking is daarnaast noodzakelijk voor de vervulling van een taak van algemeen belang of van een taak in het kader van de uitoefening van het openbaar gezag dat aan de verwerkingsverantwoordelijke is opgedragen. De bewaartermijnen worden geregeld via o.a. artikel 49 en 50 VLAREL en het Bestuursdecreet van 7 december 2018.

Juridisch kader

Dit besluit sluit aan bij de volgende regelgeving:

- het ministerieel besluit van 16 juni 2023 houdende de goedkeuring van het compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC) en tot wijziging van bijlage 4.2.5.2 bij het besluit van de Vlaamse Regering van 1 juni 1995 houdende algemene en sectorale bepalingen inzake milieuhygiëne.

DE VLAAMSE MINISTER VAN JUSTITIE EN HANDHAVING, OMGEVING, ENERGIE EN
TOERISME BESLUIT:

Artikel 1. Het compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water, afgekort WAC, en de bijhorende inhoudstafel, die opgenomen zijn in de bijlage die bij dit besluit is gevoegd, worden goedgekeurd.

Art. 2. De verwerking van persoonsgegevens door het departement, de Vlaamse Milieumaatschappij en het referentielaboratorium van het Vlaamse Gewest in het kader van de toepassing van het compendium vermeld in artikel 1 is beperkt tot de naam van de monsternemer en de datum, het uur en de plaats van de monsternemingen. De locatiedata worden enkel gebruikt voor de wettelijk voorziene doeleinden.

Art. 3. Het ministerieel besluit van 16 juni 2023 houdende de goedkeuring van het compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC) en tot wijziging van bijlage 4.2.5.2 bij het besluit van de Vlaamse Regering van 1 juni 1995 houdende algemene en sectorale bepalingen inzake milieuhygiëne wordt opgeheven.

Art. 4. In artikel 4, §1, van bijlage 4.2.5.2 van het besluit van de Vlaamse Regering van 1 juni 1995 houdende algemene en sectorale bepalingen inzake milieuhygiëne, het laatst gewijzigd bij het besluit van de Vlaamse Regering van 3 mei 2019, worden in de tabel onder de organische parameters de volgende wijzigingen aangebracht:

1° de rijen

“

perfluorooctaanzuur (som van lineaire en vertakte vormen) (PFOAtotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025
perfluorooctaansulfonzuur (som van lineaire en vertakte vormen) (PFOSAtotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025
perfluorooctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte vormen) (PFOSAtotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025
N-methylperfluorooctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte vormen) (MePFOSAtotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025
N-ethylperfluorooctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte vormen) (EtPFOSAtotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025
perfluorhexaansulfonzuur (som van lineaire en vertakte vormen) (PFHxStotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025

”

worden vervangen door de rijen

“

perfluorooctaanzuur (totaal van lineaire en vertakte vormen) (PFOAtotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025
perfluorooctaansulfonzuur (totaal van lineaire en vertakte vormen) (PFOSStotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025
perfluorooctaansulfonamide (totaal van lineaire en vertakte vormen) (PFOSAtotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025
N-methylperfluorooctaansulfonamide (totaal van lineaire en vertakte vormen) (MePFOSAtotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025
N-ethylperfluorooctaansulfonamide (totaal van lineaire en vertakte vormen) (EtPFOSAtotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025
perfluorhexaansulfonzuur (totaal van lineaire en vertakte vormen) (PFHxStotaal)	50 ng/l	50 %	WAC/IV/A/025

”.

Art. 5. Dit besluit heeft uitwerking met ingang van 15 januari 2024.

Brussel, (datum).

De Vlaamse minister van Justitie en Handhaving, Omgeving, Energie en
Toerisme,

Zuhal DEMIR

Bijlage. Compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC) als vermeld in artikel 1

Inhoudstafel van het compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC)

DEEL I. ALGEMEEN

A. Monsterneming en voorbehandeling

Ogenblikkelijke monstername (aan kraan) van water voor menselijke consumptie	WAC/I/A/001	mei 2023
Ogenblikkelijke monstername (aan kraan) van water	WAC/I/A/002	mei 2023
Ogenblikkelijke monstername (schepmonster) van water	WAC/I/A/003	mei 2023
Procedure voor het nemen van een verzamelmonster	WAC/I/A/004	maart 2022
Monstername van water via een peilput, inclusief conservering en transport	WAC/I/A/005	januari 2023
Monsterneming van macro-invertebraten en verwerking van de monsters	WAC/I/A/006	november 2017
Monstername van bemalingswater	WAC/I/A/007	juni 2023
Conservering en behandeling van watermonsters	WAC/I/A/010	juni 2023
Meting ter plaatse van temperatuur, pH, elektrische geleidbaarheid, opgeloste zuurstof, vrije chloor en gebonden chloor	WAC/I/A/011	januari 2020
Bepaling van het debiet in controle-inrichtingen voor afvalwater	WAC/I/A/012	mei 2023

DEEL II. ORGANOLEPTISCHE ANALYSEMETHODEN

A. Organoleptische parameters

Methoden voor de bepaling van organoleptische parameters	WAC/II/A	maart 2013
CIE 1976 totaal kleurverschil - ΔE^*_{ab}	WAC/II/A/001	januari 2005
Onderzoek en bepaling van kleur	WAC/II/A/002	maart 2013
Kwalitatieve vaststelling en kwantitatieve bepaling van geur en smaak	WAC/II/A/003	juni 2017

DEEL III. ANORGANISCHE ANALYSEMETHODEN

A. Algemene testen

Methoden voor de bepaling van algemene anorganische parameters	WAC/III/A	oktober 2021
Bepaling van de droogrest	WAC/III/A/001	juni 2020

Bepaling van de temperatuur	WAC/III/A/003	november 2016
Bepaling van de elektrische geleidbaarheid	WAC/III/A/004	november 2020
Bepaling van de pH	WAC/III/A/005	november 2016
Bepaling van de alkaliniteit en de buffercapaciteit	WAC/III/A/006	november 2016
Bepaling van opgeloste zuurstof	WAC/III/A/008	oktober 2020
Bepaling van totale hardheid	WAC/III/A/009	oktober 2015
Bepaling van de troebelingsgraad	WAC/III/A/010	oktober 2018
Berekening van de saturatie-index	WAC/III/A/011	november 2018

B. Bepaling van elementen

Methoden voor de bepaling van elementen	WAC/III/B	mei 2022
Ontsluiting voor de bepaling van geselecteerde elementen in water – salpeterzuurontsluiting	WAC/III/B/001	oktober 2018
Ontsluiting voor de bepaling van geselecteerde elementen in water – aqua regia ontsluiting	WAC/III/B/002	april 2021
Bepaling van de geselecteerde elementen met inductief gekoppeld plasma - atomaire emissiespectrometrie	WAC/III/B/010	juni 2023
Bepaling van elementen met inductief gekoppeld plasma - massaspectrometrie (ICP-MS)	WAC/III/B/011	juni 2023
Bepaling van antimoon, arseen en seleen met hydride - atomaire absorptiespectrometrie	WAC/III/B/012	juni 2019
Bepaling van kwik	WAC/III/B/014	juni 2023

C. Bepaling van anionen

Methoden voor de bepaling van anionen	WAC/III/C	februari 2023
Bepaling van opgeloste anionen door vloeistof-chromatografie. Bepaling van bromide, chloride, fluoride, nitraat, nitriet, orthofosfaat en sulfaat	WAC/III/C/001	mei 2022
Bepaling van ionen met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie – ammonium, chloride, nitraat, nitriet, orthofosfaat en sulfaat	WAC/III/C/002	november 2016
Bepaling van het gehalte aan orthofosfaat en totaal fosfor met behulp van doorstroomanalyse	WAC/III/C/010	oktober 2019
Bepaling van fluoride met ion selectieve elektrode	WAC/III/C/020	februari 2023
Bepaling van fluoride met doorstroomanalyse	WAC/III/C/022	mei 2022
Bepaling van het gehalte aan vrij cyanide met behulp van continue doorstroomanalyse	WAC/III/C/030	oktober 2016
Potentiometrische bepaling van opgelost en in zuur milieu oplosbare sulfiden	WAC/III/C/040	oktober 2016
Spectrofotometrische bepaling van opgelost en in zuur milieu oplosbare sulfiden	WAC/III/C/041	oktober 2016

Bepaling van opgelost chroom VI in water door ionenchromatografie	WAC/III/C/050	februari 2023

D. Bepaling van groepsparameters

Methoden voor de bepaling van groepsparameters	WAC/III/D	mei 2022
Bepaling van de bezinkbare stoffen	WAC/III/D/001	december 2012
Bepaling van vaste stoffen in suspensie. Methode door filtratie op glasvezelfilter	WAC/III/D/002	mei 2022
Bepaling afmeting zwevende stoffen	WAC/III/D/003	januari 2013
Bepaling van het biochemisch zuurstofverbruik (BZV) na 5 dagen	WAC/III/D/010	juli 2021
Bepaling van het chemisch zuurstofverbruik (CZV)	WAC/III/D/020	juni 2023
Bepaling van de oxideerbaarheid bij warmte	WAC/III/D/022	juni 2019
Bepaling van Kjeldahl-stikstof. Methode na mineralisatie met selenium	WAC/III/D/030	oktober 2013
Bepaling van het gehalte aan nitrietstikstof en nitraatstikstof en de som van beide met behulp van doorstroomanalyse	WAC/III/D/031	oktober 2016
Bepaling van het totaal stikstofgehalte na oxidatieve digestie met peroxodisulfaat	WAC/III/D/032	november 2016
Bepaling van de totale gebonden stikstof (TNb) en opgeloste gebonden stikstof (DNb) na katalytische oxidatieve verbranding bij hoge temperatuur	WAC/III/D/033	mei 2022
Bepaling van het gehalte aan totaal cyanide met behulp van continue doorstroomanalyse	WAC/III/D/036	oktober 2016
Bepaling van de methyleenblauw actieve substanties (MBAS) index met behulp van doorstroomanalyse	WAC/III/D/040	mei 2017
Bepaling van de totale organische koolstof (TOC) en/of de opgeloste organische koolstof (DOC)	WAC/III/D/050	mei 2022

E. Bepaling van kationen

Methoden voor de bepaling van kationen	WAC/III/E	juni 2023
Bepaling van ammoniumstikstof door manuele spectrofotometrie	WAC/III/E/020	oktober 2016
Bepaling van het gehalte aan ammoniumstikstof met behulp van doorstroomanalyse	WAC/III/E/021	oktober 2012
Bepaling van het gehalte aan ammoniumstikstof met behulp van ionenchromatografie	WAC/III/E/023	oktober 2012

DEEL IV. ORGANISCHE ANALYSEMETHODEN

A. Bepaling van specifieke parameters

Bepaling van fenolische verbindingen in water	WAC/IV/A/001	oktober 2021

Bepaling van polycyclische aromatische koolwaterstoffen in water	WAC/IV/A/002	september 2021
Bepaling van ureum	WAC/IV/A/003	oktober 2017
Bepaling van di-2-ethylhexylftalaat en andere ftalaten in oppervlaktewater	WAC/IV/A/004	oktober 2021
Bepaling van octylfenol, nonylfenol en bisfenol A in afvalwater met behulp van LC-MS/MS	WAC/IV/A/005	augustus 2015
Toestelinstellingen van GC-MS/MS bij de bepaling van organische parameters	WAC/IV/A/006	november 2018
Bepaling van formaldehyde in water	WAC/IV/A/007	oktober 2019
Bepaling van ftalaten in water met GC-MS/MS	WAC/IV/A/008	oktober 2020
Bepaling van organofosforpesticiden in water	WAC/IV/A/010	oktober 2021
Bepaling van matig vluchtige chloorkoolwaterstoffen in water	WAC/IV/A/015	juni 2022
Bepaling van vluchtige organische verbindingen in water	WAC/IV/A/016	mei 2022
Specifieke bepaling van niet-ionogene surfactanten in water met LC-am-MS	WAC/IV/A/021	juni 2022
Specifieke bepaling van kationische surfactanten in water met LC-MS	WAC/IV/A/022	mei 2022
Bepaling van dioxines en dioxineachtige verbindingen in water	WAC/IV/A/023	mei 2022
Bepaling van aromatische amines in water	WAC/IV/A/024	oktober 2021
Bepaling van per- en polyfluoralkylverbindingen (PFAS) in water met LC-MS/MS	WAC/IV/A/025	juni 2023
Bepaling van pesticiden in water met LC-MS	WAC/IV/A/027	oktober 2021
Bepaling van pesticiden in water met GC-MS	WAC/IV/A/028	oktober 2021
Bepaling van glyfosaat en AMPA in water met LC-MS	WAC/IV/A/029	november 2020
Bepaling van gebromeerde brandvertragers in water	WAC/IV/A/030	november 2018
Bepaling van organotinverbindingen in water	WAC/IV/A/031	november 2018

B. Bepaling van groepsparameters

Bepaling van de fenolindex met behulp van continue doorstroomanalyse	WAC/IV/B/001	april 2021
Bepaling van petroleumetherextraheerbare stoffen in water	WAC/IV/B/005	januari 2012
Extraheerbare organische halogeenvverbindingen (EOX) in water	WAC/IV/B/010	januari 2012
Adsorbeerbare organische halogeenvverbindingen (AOX) in water	WAC/IV/B/011	mei 2022
Purgeerbare organische halogeenvverbindingen (POX) in water	WAC/IV/B/012	oktober 2020

Bepaling van het adsorbeerbaar organisch fluor (AOF) gehalte met combustion-ionchromatografie	WAC/IV/B/013	juni 2023
Organische screening	WAC/IV/B/020	januari 2013
Organische screening: Leidraad voor de identificatie van organische verbindingen in water met behulp UHPLC-HRMS	WAC/IV/B/021	februari 2018
Kwalitatieve GC-screening	WAC/IV/B/022	november 2018
Bepaling van minerale olie in water met gaschromatografie	WAC/IV/B/025	juni 2023
Bepaling van tetrachlooretheenextraheerbare stoffen in water met IR-spectrofotometrie	WAC/IV/B/026	november 2016
Gelpermeatiechromatografie (GPC) voor de zuivering van monsterextracten bij de bepaling van organische parameters	WAC/IV/B/040	september 2010

DEEL V. BIOLOGISCHE ANALYSEMETHODEN

A. Bepaling van bacteriologische parameters

Bepaling van totaal kiemgetal	WAC/V/A/001	mei 2022
Bepaling van totale coliformen en <i>E.coli</i>	WAC/V/A/002	mei 2022
Bepaling van enterokokken	WAC/V/A/003	augustus 2021
Bepaling van <i>Salmonella</i> spp.	WAC/V/A/004	augustus 2021
Bepaling van <i>Legionella</i> in drinkwater en in koeltorenwater	WAC/V/A/005	mei 2023
Bepaling van <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WAC/V/A/006	september 2022
Bepaling van <i>Clostridium perfringens</i>	WAC/V/A/007	augustus 2021
Bepaling van coagulase positieve stafylokokken	WAC/V/A/008	augustus 2021
Bepaling van de meetonzekerheid bij microbiologische analyses	WAC/V/A/009	november 2020

B. Bepaling van ecotoxiciteit

Ecotoxiciteitstest met invertebraten: acute toxiciteit voor de watervlo (<i>Daphnia magna</i>) of het pekelkreeftje (<i>Artemia franciscana</i>)	WAC/V/B/001	mei 2022
Ecotoxiciteitstest met vissen: acute toxiciteit voor zebravisembryo (<i>Danio rerio</i>)	WAC/V/B/002	juni 2023
Ecotoxiciteitstest met algen: groei-inhibitietest met de zoetwateralg (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>) of de mariene alg (<i>Phaeodactylum tricornutum</i>)	WAC/V/B/003	juni 2023
Ecotoxiciteitstest met bacterie: acute toxiciteit voor de luminescente bacterie (<i>Aliivibrio fischeri</i>)	WAC/V/B/004	juni 2023

Zahn-Wellenstest op afvalwaters: bio-elimineerbaarheid van DOC en toxiciteit na 7 tot 28 dagen behandeling	WAC/V/B/005	november 2020
Ecotoxiciteitstest met vissen: acute toxiciteit voor forel (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	WAC/V/B/007	juni 2023

C. Bepaling van biodiversiteit

BBI-berekening op basis van op het veld verzamelde macro-invertebraten	WAC/V/C/001	september 2015
MMIF-berekening op basis van op het veld verzamelde macro-invertebraten	WAC/V/C/002	september 2015

DEEL VI. VALIDATIE

A. Algemeen

Prestatiekenmerken	WAC/VI/A/001	juni 2023
Meetonzekerheid	WAC/VI/A/002	april 2020
Kwaliteitseisen voor de analysemethoden	WAC/VI/A/003	juni 2023
Voorwaarden voor rapportering van monsternamegegevens en analyseresultaten door een erkend laboratorium	WAC/VI/A/004	juni 2023

Het compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC)

Het compendium vermeld in artikel 1 is in extenso beschikbaar via de website <https://emis.vito.be/nl/erkende-laboratoria/water-gop/compendium-wac> met als kenmerk MB 2024.

Gezien om gevoegd te worden bij het ministerieel besluit van (datum) tot goedkeuring van het compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC) en tot wijziging van bijlage 4.2.5.2 bij het besluit van de Vlaamse Regering van 1 juni 1995 houdende algemene en sectorale bepalingen inzake milieuhygiëne.

Brussel, (datum).

De Vlaamse minister van Justitie en Handhaving, Omgeving, Energie en Toerisme,

Zuhal DEMIR

Ogenblikkelijke monstername (aan kraan) van water voor menselijke consumptie

INHOUD

1	TOEPASSINGSGEBIED	4
2	APPARATUUR, MATERIAAL EN OPLOSSINGEN	4
3	BEPALING VAN DE MONSTERNAMEMETHODE	6
4	UITVOERING MONSTERNEMING	8
4.1	<i>Standaardmethode A: monstername voor de bepaling van de waterkwaliteit van het geproduceerde/aangeleverde water</i>	8
4.1.1	Vorbereiding monstername	8
4.1.2	Monstername (fysico)chemische parameters	9
4.1.3	Monstername bacteriologische parameters	9
4.1.4	Beëindigen monstername	9
4.2	<i>Standaardmethode B: monstername voor de bepaling van de waterkwaliteit aan een afnamepunt ter consumptie</i>	9
4.2.1	Vorbereiding monstername	9
4.2.2	Monstername (fysico)chemische parameters	10
4.2.3	Monstername bacteriologische parameters	10
4.2.4	Beëindigen monstername	11
4.3	<i>Standaardmethode C: monstername voor bepaling risico-evaluatie bij consumptie (worst-case benadering)</i>	12
4.3.1	Vorbereiding monstername	12
4.3.2	Monstername (fysico)chemische OF bacteriologische parameters	13
4.4	<i>Procedures te respecteren i.k.v. monstername in uitvoering van het controleprogramma conform het Besluit van Vlaamse Regering houdende reglementering inzake de kwaliteit en de levering van water bestemd voor menselijke consumptie (cfr. Bijlage A)</i>	13
4.5	<i>Speciale staalnamepunten</i>	13
4.6	VULLEN VAN RECIPIENTEN	14
4.6.1	Algemeen	14
4.6.2	Conservering	15
4.6.3	Vulvolgorde	15
4.6.4	Aandachtspunten bij het vullen van recipiënten	16
4.7	<i>Richtlijnen m.b.t. specifieke analyseparameters</i>	16
4.7.1	PFAS	16
5	METINGEN TER PLAATSE	17
6	VELDREGISTRATIES	17
7	RAPPORTERING	18
8	TRANSPORT	18
9	REFERENTIES	18
10	BIJLAGEN	20
BIJLAGE A		20
A.1	<i>Tapkraan bij particulieren of publieke gebouwen (eventueel bij bedrijven)</i>	20
A.2	<i>Leegloopkraan (dicht bij de watermeter)</i>	21

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de ogenblikkelijke monsternamen aan een kraan van water bestemd voor menselijke consumptie, inclusief de specificaties betreffende conservering, transport en metingen ter plaatse.

Water voor menselijke consumptie wordt gedefinieerd als a) het water dat onbehandeld of na behandeling bestemd is voor drinken, koken, voedselbereiding of andere huishoudelijke doeleinden, zowel in openbare als in particuliere gebouwen en terreinen, ongeacht de herkomst en of het water wordt geleverd via een distributienet, geleverd uit een tankschip of in flessen of in verpakkingen wordt gedaan, met inbegrip van bronwater,} en b) het water dat in levensmiddelenbedrijven wordt gebruikt voor de vervaardiging, de behandeling, de conservering of het in de handel brengen van voor menselijke consumptie bestemde producten of stoffen, met uitzondering van natuurlijke minerale waters (behalve bronwater) en als geneesmiddel gebruikt water.

Deze monsternamen kan kaderen binnen verschillende wetgevende kaders (bijv. levering van water voor menselijke consumptie, toezicht volksgezondheid, milieuhygiëne, ...), waardoor verschillende methoden worden beschreven, afhankelijk van het beoogde doel. In Bijlage A wordt een specifieke monsternamemethode beschreven in kader van het controleprogramma conform het Besluit van Vlaamse Regering houdende reglementering inzake de kwaliteit en de levering van water bestemd voor menselijke consumptie.

Deze procedure beschrijft steeds de monsternamen voor (fysico-)chemische en bacteriologische analyses in het laboratorium. Ook voor metingen ter plaatse van pH, geleidbaarheid, temperatuur, vrije en gebonden chloor en/of opgeloste zuurstof zijn de randvoorwaarden vastgelegd. Voor deze metingen ter plaatse wordt verwezen naar WAC/I/A/011.

Voor de monsternamen aan de kraan van water dat niet voor menselijke consumptie wordt gebruikt (tweedecircuitwater bijv. afvalwater, spoelwater, koelwater, ...) wordt verwezen naar WAC/I/A/002.

2 APPARATUUR, MATERIAAL EN OPLOSSINGEN

- 2.1. Voldoende monsterrecipiënten voor de te analyseren parameters (voorgeconserveerd en/of aantoonbaar steriel, indien van toepassing), voor (fysico-)chemische en/of bacteriologische parameters. De richtlijnen m.b.t. het minimale volume water, de nodige conserveermiddelen en te gebruiken recipiënten (bijv. plastic, glas,...) per parameter(groep) conform WAC/I/A/010 moeten gerespecteerd worden.

Elke monsterrecipiënt in- dient voorzien te zijn van een (voorgedrukte) label met vermelding van monstercodering, datum monsterneming, analyseparameter(s) of andere eenduidige identificatie of link naar de analyseparameter(s), conserveermiddel en/of steriliteit, en houdbaarheid ervan (indien noodzakelijk); facultatief aanduiding plaats/locatie van de monsterneming.

- 2.2. Tang en/of sleutel om opzet- of koppelstukken te verwijderen

- 2.3. Beker/recipient 1 liter voor het opvangen van de eerste liter water bij methode C (steriel, indien gebruikt voor bacteriologische monstername)

Voor bacteriologische parameters kunnen ook steriele zakken gebruikt worden (zie 2.5), met een volume vergelijkbaar met 1 liter.

- 2.4. Beker/recipient 250 à 1000 ml voor het meten van de temperatuur tijdens of bij de monstername aan kranen

Het volume van 250 ml is een afwijking ten opzichte van WAC/III/A/003, maar is bedoeld om het stabiliteitscriterium in methode A binnen een redelijke tijdspanne te kunnen opvolgen.

- 2.5. Trechters of plastic zakken (steriel, indien gebruikt voor bacteriologische monstername)
2.6. Absorberend papier
2.7. Katoenen watten (kwaliteit voor medisch gebruik)
2.8. Draagbare bunzenbrander met gasvulling
2.9. Aansteker
2.10. Vochtige alcoholdoekjes, bijv. isopropanoldoekjes
2.11. Desinfectans: ethanol, isopropanol, hypochloriet, of ander gelijkwaardig
2.12. Desinfecterende handgel
2.13. Persoonlijke beschermingsmiddelen, afhankelijk van de omstandigheden van de monsterneming.

Wegwerphandschoenen en veiligheidsbril (bij het vullen van recipienten met conserveermiddelen) worden aanbevolen. Bij monstername i.k.v. *Legionella* wordt ademhalingsbescherming FFP3 tegen aerosolen aanbevolen.

- 2.14. Draagbare digitale thermometer of thermokoppel afleesbaar tot op 0,1°C conform WAC/III/A/003. Voor veldmetingen is een meetbereik tot +65°C aanbevolen.
2.15. Monsternemingsformulier
2.16. Timer / klok / stopwatch
2.17. Kleefband, tape
2.18. Schaar (steriel, indien gebruikt voor bacteriologische monstername)
2.19. Koelboxen met voldoende diepgevroren koelelementen of koelinstallatie om gekoeld transport van monsters te garanderen
2.20. Temperatuurlogger voor koelbox (aanbevolen)
2.21. Fototoestel (facultatief)

3 BEPALING VAN DE MONSTERNAMEMETHODE

De uitvoering van een ogenblikkelijke monstername van water (leidingwater, putwater, ...) voor menselijke consumptie aan kranen is afhankelijk van het beoogde doel van de monstername, zoals het bepalen van de kwaliteit van het geproduceerde of aangeleverde water, van het geconsumeerde water, voor risico-evaluatie. Maar de monstername is ook afhankelijk van het (wettelijk) kader (drinkwater, gezondheidsinspectie, sectorale milieuhygiënische bepalingen, ...) en van de te analyseren parameter(s) of parametergroepen.

Daarom is het primordiaal dat de monstername-instantie vóór de monstername over alle informatie i.v.m. doel, kader en analyseparameters voor de monstername beschikt, zodat deze de correcte bemonsteringsmethode(n) kan vastleggen.

Het kan ook voorkomen dat het beoogde doel en opgegeven parameters niet verenigbaar zijn binnen één monstername, en dat de monstername opgesplitst moet worden over verschillende afname- of leverpunten, of zelfs over verschillende tijdstippen. Na deze analyse kan de monsternemer na overleg met de technisch verantwoordelijke een meest gepaste monsternamestrategie vastleggen.

Bij de monstername kan gebruik gemaakt worden van verschillende methodes uit Tabel 1:

Tabel 1

Methode	Type water	Verwijderen koppelstukken	Spoelen	Desinfecteren ¹
A	het geproduceerde/ aangeleverde water (§4.1) aan een afnamepunt ter consumptie (§4.2) risico-evaluatie (worst- case) (§4.3)	j	tot constante temp.	j
B		a	kort (ca. 1 l)	a
C		j	nee	j
		a		a
		n		n
		e		e
		e		e

- de standaard monsternamemethoden A, B of C
- specifieke monsternamemethode waar binnen één monstername een combinatie van meerdere doeleinden/kaders gemaakt wordt, al dan niet afhankelijk van de te bepalen parameter.

Een voorbeeld hiervan wordt gegeven in Bijlage A. **Voor een monstername in uitvoering van het controleprogramma conform het Besluit van Vlaamse Regering houdende reglementering inzake de kwaliteit en de levering van water bestemd voor menselijke consumptie bestaat een specifieke monsternameprocedure.** Deze specifieke procedure is van toepassing voor waterleveranciers, hetzij drinkwatermaatschappijen, hetzij eigenaars van een private waterwinning die het gewonnen water leveren als water bestemd voor menselijke consumptie zonder een openbaar netwerk te gebruiken. Ook laboratoria die door een waterleverancier worden aangesteld om een controle uit te voeren in uitvoering van de wetgeving inzake drinkwater moeten deze specifieke monsternameprocedure respecteren.

Voor de controle van water in de levensmiddelensector geldt ook een specifieke monsternamemethode (zie <http://www.afsca.be/autocontrole-nl/informatie/waterkwaliteit/>).

¹ Enkel bij monstername van monsters bestemd voor bacteriologische analyses;

De verschillen tussen de methoden zitten hoofdzakelijk in het al dan niet verwijderen van koppelstukken, spoelen en desinfecteren (enkel voor bacteriologische parameters) en de volgorde in monsternamen van de te analyseren parameter(s)(groepen).

Naar interpretatie van de analyseresultaten toe kunnen, op basis van de gekozen monsternamemethode, conclusies getrokken worden of de gemeten waarden representatief zijn voor het water zelf, voor het binnenhuisnetwerk, of voor het specifieke afnamepunt.

De toegepaste monsternamemethode moet altijd vermeld worden op het analyse- of monsternemingsverslag. Indien een combinatie van meerdere methoden toegepast werd, moet in het analyse- of monsternemingsverslag duidelijk zijn welke methode voor welke parameters gebruikt werd.

4 UITVOERING MONSTERNEMING

4.1 STANDAARDMETHODE A: MONSTERNAME VOOR DE BEPALING VAN DE WATERKWALITEIT VAN HET GEPRODUCEERDE/AANGELEVERDE WATER

Dit is de methode om de kwaliteit van het water te bepalen zoals het geproduceerd/ aangeleverd wordt, **zonder** de eventuele invloed van een binnenleidingsnetwerk. Daarom wordt in deze methode steeds gespoeld tot constante temperatuur. Het gaat hier dus om de intrinsieke kwaliteit van het water.

4.1.1 VOORBEREIDING MONSTERNAME

- 1) Voer de monstername uit op een afnamepunt dat zich het dichtst bij de (hoofd)leidingen van het waterdistributienet of pomp bevinden. In praktijk kan dit een afnamepunt in het distributienet zelf zijn, of het leveringspunt bij particulieren, bedrijven of publieke gebouwen. Voor deze laatste wordt bij voorkeur gebruik gemaakt van het afnamepunt dat zich het dichtst bij de watermeter bevindt, maar een normaal afnamepunt waar het water ter beschikking komt van de consument (bijv. keuken, badkamer,...), is eveneens geschikt, zolang voldoende lang gespoeld wordt tot constante temperatuur.

Opmerking: het spoelen bij een normaal afnamepunt zal meer tijd in beslag nemen dan bij het leverpunt, aangezien het volume van de binnenleiding tot aan het afnamepunt mee gespoeld moeten worden.

Lokaliseer het gekozen monsternamepunt en kies de koudwaterkraan of plaats de kraan in de koudwaterstand (indien mengkraan). Elke afwijking hiervan dient gerapporteerd te worden. Het type kraan en/of stand die bemonsterd werd, moet steeds gerapporteerd worden.

Controleer de kraan op eventuele oxidatieverschijnselen (roest). Indien teveel roest aanwezig is, selecteer dan, indien mogelijk, een ander monsternamepunt, bij voorkeur zo dicht mogelijk bij de watermeter. Gebruik de koudwaterkraan of plaats een mengkraan in koudwaterstand.

Documenteer het monsternamepunt eenduidig op het monsternemingsformulier (adres, lokaal, schets, GPS-coördinaten, mengkraan, ...).

Afwijkingen ten aanzien van het monsternamepunt worden gedocumenteerd en gemotiveerd.

- 2) Verwijder alle opzet- en/of koppelstukken (ook zeefje en/of straalbreker, indien aanwezig) die manueel of met behulp van een tang/sleutel losgemaakt kunnen worden. (eventueel laten uitvoeren door de eigenaar om eventuele aantijgingen van schade te vermijden). Verwijder zichtbaar aanklevend vuil met (water) bevochtigd absorberend papier (eenmalig te gebruiken). Maak ook de binnenkant van de kraan schoon met bevochtigd papier.
- 3) Draag minimaal wegwerphandschoenen (éénmalig te gebruiken) bij het vullen van monsterrecipiënten met conserveermiddel.
- 4) Open de kraan ² (mag bij volledig kraandebiet) en spoel tot een constante temperatuur van het water wordt bereikt. Sluit de kraan pas als alle monsterrecipiënten voor (fysico)chemische parameters gevuld zijn.
Volg de temperatuur tijdens het spoelen continu op met behulp van een digitale thermometer die in een overlopende beker (250 ml) onder de waterstraal geplaatst wordt. Constante temperatuur wordt bereikt als de gemeten temperatuur gedurende 1 minuut stabiel blijft (max. 0.1 °C schommeling).
Noteer de gestabiliseerde temperatuur; deze geldt als temperatuursmeting bij de monsterneming.

² Niet van toepassing voor continu stromende kranen.

- 5) Indien (fysico-)chemische parameters bepaald moeten worden, ga verder naar 6); indien enkel bacteriologische parameters bepaald moeten worden, sluit de kraan en ga verder naar 8).

4.1.2 MONSTERNAME (FYSICO)CHEMISCHE PARAMETERS

- 6) Regel de kraan op half debiet en vul de monsterrecipiënten voor fysico-chemische parameters conform §4.6.
- 7) Indien geen bacteriologische parameters bepaald moeten worden, ga verder naar 12).

4.1.3 MONSTERNAME BACTERIOLOGISCHE PARAMETERS

- 8) Desinfecteer de kraan. Dit kan thermisch door de binnenkant en het uiteinde van de kraan gedurende 30 seconden te verhitten (zonder wegwerphandschoenen!) met een draagbare bunzenbrander of door een in ethanol of isopropanol gedrengde prop watten in de uitstroomopening van de kraan te plaatsen en deze met een aansteker in brand te steken. Indien de kraan geverfd is of uit kunststof(onderdelen) bestaat, wordt gedesinfecteerd door de buiten -en binnenkant te bevochtigen met ethanol, isopropanol of ander desinfectans.
- 9) Draag minimaal wegwerphandschoenen (éénmalig te gebruiken) bij het vullen van monsterrecipiënten met conserveermiddel.
- 10) Open de kraan en spoel (mag bij volledig debiet) kort na het desinfecteren om de invloed van het thermisch effect ongedaan te maken of om resten van het desinfectans te verwijderen.
- 11) Regel de kraan op half debiet geopend en vul de voorgeconserveerde natriumthiosulfaat steriele monsterrecipiënt(en) voor bacteriologische parameters conform §4.6.

4.1.4 BEËINDIGEN MONSTERNAME

- 12) Sluit de kraan³.
- Monteer eventueel verwijderde opzet- en/of koppelstukken.

4.2 STANDAARDMETHODE B: MONSTERNAME VOOR DE BEPALING VAN DE WATERKWALITEIT AAN EEN AFNAMEPUNT TER CONSUMPTIE

Deze monsternamemethode geeft de kwaliteit van het water aan een afnamepunt ter consumptie, **inclusief** de eventuele invloed van een binnenleidingsnetwerk. Deze invloed is afhankelijk van de keuze van het staalnamepunt en de locatie ervan binnen het binneleidingsnetwerk. In deze methode wordt **doorgaans** enkel kort (**ca. 1 l**) gespoeld. De invloed van verontreinigingen van het afnamepunt zelf wordt uitgesloten.

4.2.1 VOORBEREIDING MONSTERNAME

- 1) Voer de monstername uit aan een representatief afnamepunt waar het water ter beschikking komt bij particulieren of publieke gebouwen (of evt. bij bedrijven). In praktijk wordt meestal het afnamepunt ter hoogte van de keukenkraan gekozen.
- Indien deze niet ter beschikking of onbruikbaar (bijv. veel roest,...) is, selecteer dan een ander afnamepunt, bijv. in de badkamer.
- Voor methode B zal in principe steeds de koudwaterkraan of kraan in koudwaterstand gekozen worden, maar kan – in overleg met de opdrachtgever - anders vastgelegd worden in functie van het hoogste risico voor een beoogde analyseparameter (bijv. i.k.v. een specifiek

³ Niet van toepassing voor continu stromende kranen.

beheersplan). Elke afwijking van de koudwaterstand dient gemotiveerd en gerapporteerd te worden. Het type kraan en/of stand die bemonsterd werd, moet steeds gerapporteerd worden.

Lokaliseer het staalnamepunt en controleer de kraan op eventuele oxidatieverschijnselen (roest). Gebruik de koudwaterkraan of plaats een mengkraan in koudwaterstand.

Documenteer het gekozen staalnamepunt eenduidig op het monsternemingsformulier (adres, lokaal, schets, GPS-coördinaten, mengkraan, ...).

Afwijkingen ten aanzien van het staalnamepunt worden gedocumenteerd en gemotiveerd.

- 2) Verwijder alle opzet- en/of koppelstukken (ook zeefje en/of straalbreker, indien aanwezig) die manueel of m.b.v. een tang/sleutel losgemaakt kunnen worden (eventueel laten uitvoeren door de eigenaar om eventuele aantijgingen van schade te vermijden).
Verwijder zichtbaar aanklevend vuil met (water) bevochtigd absorberend papier (eenmalig te gebruiken). Maak ook de binnenkant van de kraan schoon met bevochtigd papier.
- 3) Draag minimaal wegwerphandschoenen (eenmalig te gebruiken) bij het vullen van monsterrecipiënten met conserveermiddel.
- 4) Indien (fysico-)chemische parameters bepaald moeten worden, ga verder naar 5); indien enkel bacteriologische parameters bepaald moeten worden, ga verder naar 8).

4.2.2 MONSTERNAME (FYSICO)CHEMISCHE PARAMETERS

- 5) Open de kraan (mag bij volledig kraandebiet) en spoel kort (ca.1 liter).
- 6) Regel de kraan op half debiet en vul de monsterrecipiënten voor fysico-chemische parameters conform §4.6.

Een veel voorkomende monsternemingsopdracht is om de invloed van de binnenleiding voor een bepaalde parameter (bijv. lood) na te gaan. Hiervoor kan het nodig zijn om de eerste spoeling onder 4) op te vangen en te gebruiken voor de analyse van de desbetreffende parameter (methode C). De overige analyseparameters worden in de volgorde gevuld, zoals beschreven onder §4.6.3.

- 7) Indien bacteriologische parameters bepaald moeten worden, sluit de kraan en ga verder naar 8). Indien geen bacteriologische parameters bepaald moeten worden, ga verder naar 12).

4.2.3 MONSTERNAME BACTERIOLOGISCHE PARAMETERS

- 8) Desinfecteer de kraan. Dit kan thermisch door de binnenkant en het uiteinde van de kraan gedurende 30 seconden te verhitten (zonder wegwerphandschoenen!) met een draagbare bunzenbrander of door een in ethanol of isopropanol gedrenkte prop watten in de uitstroomopening van de kraan te plaatsen en deze met een aansteker in brand te steken.
Indien de kraan geveerd is of uit kunststof(onderdelen) bestaat, wordt gedesinfecteerd door de buiten- en binnenkant te bevochtigen met ethanol, isopropanol of ander desinfectans.
- 9) Draag minimaal wegwerphandschoenen (éénmalig te gebruiken) bij het vullen van monsterrecipiënten met conserveermiddel.
- 10) Open de kraan (mag bij volledig debiet) en spoel kort (maximaal 1 liter) na het desinfecteren om de invloed van het thermisch effect ongedaan te maken of om resten van het desinfectans ongedaan te verwijderen.
- 11) Zet de kraan op half debiet geopend en vul de voorgeconserveerde (natriumthiosulfaat steriele monsterrecipiënt(en) voor bacteriologische parameters conform §4.6.

4.2.4 BEËINDIGEN MONSTERNAME

- 12) Vul aansluitend een bijkomende beker of recipiënt voor het meten van de temperatuur bij de monsterneming met behulp van een digitale thermometer. Noteer de temperatuur zodra deze stabiel⁴ is.
- 13) Sluit de kraan.
Monteer eventueel verwijderde opzet- en/of koppelstukken.

⁴ Zie §3 WAC/1/A/011

4.3 STANDAARDMETHODE C: MONSTERNAME VOOR BEPALING RISICO-EVALUATIE BIJ CONSUMPTIE (WORST-CASE BENADERING)

Deze monsternemingsmethode heeft als opzet om de minst gunstigste omstandigheden van de kwaliteit van het water na te gaan ter hoogte van het staalnamepunt. Deze methode wordt toegepast bij risico-evaluaties en in bijzondere situaties, bijv. bij een uitbraak van *Legionella*.

Bij deze methode wordt de ogenblikkelijke kwaliteit bepaald van het geconsumeerde water aan een bepaald afnamepunt via een eerste afname ('first draw', **gelijk aan een volume van 1 liter**) van de kraan. Aangezien in veel gevallen enkel de eerste afname bij de monstername overeenkomt met een worst-case benadering in kader van een risico-evaluatie, is deze monstername **meestal enkel gericht op één de parameter(s) of parametergroep(en) tot een totaal volume van te vullen monsterrecipiënten tot 1 liter**.

Wel kan de monstername voor bijkomende parameter(s) of -groep(en) (**totaal volume van te vullen monsterrecipiënten is meer dan 1 liter**) gecombineerd worden met andere monsternemingsmethoden, zoals beschreven in §4.1 (**methode A**) of 4.2 (**methode B**). Voor deze bijkomende parameters geeft het resultaat dan geen worst-case situatie, maar een gemiddelde kwaliteit van het water zoals het geleverd resp. geconsumeerd wordt.

Het gebruik van gecombineerde methoden moet steeds gedocumenteerd worden op het monsternemingsformulier, en moet tevens gerapporteerd worden met aanduiding van de relevante parameter(s)(groepen) per monsternemingsmethode op het analyse- of monsternemingsverslag.

Desgevallend kan een worst-case benadering voor bijkomende parameters via (een) nieuwe monstername(n) op een ander afnamepunt binnen dezelfde locatie of op een ander tijdstip uitgevoerd worden.

4.3.1 VOORBEREIDING MONSTERNAME

- 1) Voer de monstername uit aan een afnamepunt waar het water ter beschikking komt bij particulieren, publieke gebouwen of bedrijven, en waar de minst gunstige omstandigheden heersen of waar het hoogste risico is op contaminatie van de beoogde parameter(groep). In praktijk kan dit ook een afnamepunt zijn waar een besmetting of contaminatie wordt vermoed of al werd vastgesteld.
- 2) In principe kunnen hier zowel koud als warm water of water bij een bepaalde verbruikstemperatuur bemonsterd worden. Deze keuze is steeds in functie van het hoogste risico voor de beoogde analyseparameter, en moet vooraf vastgelegd worden in overleg met de opdrachtgever (bijv. zoals vermeld in het beheersplan, of bij een brononderzoek).
Voor bacteriologische parameters zal bij deze monsternamemethode steeds de stand of kra(a)nen bij verbruikstemperatuur gekozen worden. Elke afwijking hiervan dient gerapporteerd te worden. Het type kraan en/of stand die bemonsterd werd, moet steeds gerapporteerd worden.
- 3) Documenteer het staalnamepunt eenduidig op het monsternemingsformulier (adres, lokaal, schets, GPS-coördinaten, mengkraan, ...). Afwijkingen ten aanzien van het staalnamepunt worden gedocumenteerd en gemotiveerd.
- 4) Opzet- en/of koppelstukken (ook zeefje en/of straalbreker, indien aanwezig) worden niet verwijderd (tenzij het type onderzoek dit oplegt).
- 5) De kraan mag niet schoongemaakt of gedesinfecteerd worden.
- 6) De kraan mag niet gespoeld worden.
- 7) Draag minimaal wegwerphandschoenen (eenmalig te gebruiken) bij het vullen van monsterrecipiënten met conserveermiddel.

Indien de bemonstering uitgevoerd wordt in het kader van een *Legionella* uitbraak, is het aangewezen om een ademhalingsbescherming FFP3 masker tegen aerosolen te dragen.

4.3.2 MONSTERNAME (FYSICO)CHEMISCHE OF BACTERIOLOGISCHE PARAMETERS

Belangrijk!!

~~Een worst-case benadering voor meerdere parameter(s)(groepen), zowel voor (fysico)chemische als bacteriologische parameters is onmogelijk. Indien toch~~ Meerdere parameter(s)(groepen) binnen methode C kunnen enkel gecombineerd ~~moeten worden, tot een totaal volume aan te vullen recipiënten van 1 liter: worden~~ Deze overige parameter(s) of -groepen worden bemonsterd via methode A of B (of een combinatie ervan), ofwel via een nieuwe monstername volgens methode C aan een ander afnamepunt op dezelfde staalnamelocatie (bijv. badkamer) of op een ander tijdstip.

- 8) Open de kraan (op volledig debiet) en vang de eerste liter water die uit de kraan stroomt ('first draw' 1 l) op in een maatbeker (steriel indien voor bacteriologische parameters).
Vanuit deze opgevangen liter water kunnen de monsterrecipiënt(en) voor de beoogde parameter(groep) conform §4.6 gevuld worden. Een monsterrecipiënt van 1 liter kan ook rechtstreeks aan de kraan gevuld worden.
- 9) Vul aansluitend een bijkomende beker of recipiënt voor het meten van de temperatuur bij de monsterneming met behulp van een digitale thermometer. Noteer de temperatuur.
- 10) Sluit de kraan, indien geen monsterrecipiënten voor andere parameters gevuld moeten worden.

4.4 PROCEDURES TE RESPECTEREN I.K.V. MONSTERNAME IN UITVOERING VAN HET CONTROLEPROGRAMMA CONFORM HET BESLUIT VAN VLAAMSE REGERING HOUDENDE REGLEMENTERING INZAKE DE KWALITEIT EN DE LEVERING VAN WATER BESTEMD VOOR MENSELIJKE CONSUMPTIE (CFR. BIJLAGE A)

De wettelijke controle op de kwaliteit van in Vlaanderen geleverd water bestemd voor menselijke consumptie wordt toevertrouwd aan de waterleverancier. De waterleverancier is hetzij een drinkwatermaatschappij, hetzij een eigenaar van een private waterwinning die het gewonnen water levert als water bestemd voor menselijke consumptie zonder een openbaar netwerk te gebruiken.

De controle verloopt via 'bewakingcontroles' en 'auditcontroles' met een minimale frequentie die gekoppeld is aan het volume geleverde water (debiet). In beide controles worden zowel bacteriologische als fysico-chemische parameters gemeten.

De staalnameprocedures die werden ontwikkeld zijn voorbeelden van een gecombineerde methode waarbinnen één monstername een combinatie van meerdere doeleinden/kaders gemaakt worden, al dan niet afhankelijk van de te bepalen parameter.

Een onderscheid wordt gemaakt tussen een staalname aan een tapkraan en een staalname aan de leegloopkraan. De staalname aan de leegloopkraan vindt plaats in het kader van het onderzoek dat een waterleverancier moet uitvoeren bij eerder vastgestelde kwaliteitsproblemen ter hoogte van een tapkraan in het gebouw in kwestie.

Ten einde de éénduidigheid en gelijkvormigheid van de resultaten maximaal te garanderen **MOET** onderstaande procedure worden gevolgd: zie bijlage A.

4.5 SPECIALE STAALNAMEPUNTEN

De monstername van kranen kan ook van toepassing zijn op douchekranen. De monstername van douchekranen zal in de meeste gevallen kaders in een risico-evaluatie (methode C, §4.3), maar

kan ook toegepast worden voor de bepaling van de kwaliteit van het geproduceerde/aangeleverde water (methode A, §4.1) of van het geconsumeerde water (methode B, §4.2).

De uitvoering verloopt volledig conform de beschreven richtlijnen inzake vulvolgorde, spoelen, opzetstukken verwijderen, desinfecteren van de beoogde monsternamemethoden, maar met volgende richtlijnen naar uitvoering toe:

- Bij het rechtstreeks vullen van monsterrecipiënten aan een douchekraan kan het voorkomen dat het water gedeeltelijk naast de fles loopt. Om dit te vermijden moet het volledige oppervlak van de douchekop opgevangen worden (methode C: first draw 1 liter van het volledige oppervlak van de douchekop, bijv. met behulp van een trechter of in een zak die aan de buitenkant met een klem aan de douche vastgemaakt wordt (beide steriel, indien monstername voor bacteriologische parameters). Om de monsterrecipiënten te vullen wordt een tipje van de zak weggesneden met een schaar (steriel, indien monstername voor bacteriologische parameters) zodat het water zonder morsen in de monsterrecipiënt kan lopen.
- Voor het betreden van douches dienen schoenovertrekken aangetrokken te worden.

Bij kranen die bediend worden met drukknopen of sensoren (bijv. douches in zwembaden, handenwassers, drinkwaterdonsen,...), wordt de waterstroom herhaaldelijk herstart totdat het vereiste spoel- en monsternamevolume bereikt werd. Het onderbreken van de waterstroom tijdens spoelen en/of vullen van recipiënten moet als afwijking bij de monstername gerapporteerd worden.

4.6 VULLEN VAN RECIPIENTEN

4.6.1 ALGEMEEN

- De waterstraal steeds bij half debiet aanhouden om inslag van luchtbellen te vermijden.
- Meestal moet het water opgevangen worden in meer dan één monsterrecipiënt, afhankelijk van de te analyseren parameters of parametergroepen, en al dan niet met een conserveermiddel. Vermijd daarom contaminaties van het conserveermiddel door de verschillende monsterrecipiënten in een welbepaalde volgorde te vullen. Voor nadere instructies wordt verwezen naar §4.6.3.

De verschillende monsterrecipiënten worden in vlotte opeenvolgende bewegingen gevuld, waarbij de kraan blijft lopen. Ook de eventuele opeenvolging van monstername voor (fysico-)chemische en bacteriologisch parameters moet opeenvolgend en binnen een redelijke tijdsperiode (bijv. 10 min.) uitgevoerd worden, om wijzigingen in de kwaliteit van het kraanwater zo beperkt mogelijk te houden.

- Open de verschillende monsterrecipiënten één voor één, telkens net voor het vullen van de recipiënt in kwestie. Indien twee identieke monsters dienen gevuld te worden (bijv. monster - tegenmonster), open dan de twee recipiënten tegelijk en vul afwisselend kleine hoeveelheden tot beide recipiënten gevuld zijn.
- Vermijd rechtstreeks contact van de monsterrecipiënt met de kraan om directe contaminatie van de buitenkant van kraan naar het water (bijv. voor bacteriologie) of indirecte contaminatie van de monsterrecipiënt (conserveermiddel) naar de buitenkant van de kraan en vervolgens naar de volgende monsterrecipiënt, uit te sluiten.
- Vermijd overvullen of overlopen van voorgeconserveerde monsterrecipiënten om verlies van het conserveermiddel te vermijden.

Bij overvulling moet steeds een nieuwe monsterrecipiënt voor de parameter(s) in kwestie gevuld worden. Zorg dus steeds voor voldoende extra monsterrecipiënten van de te analyseren parameters.

4.6.2 CONSERVERING

- Voeg de nodige bewaar- of conserveermiddelen toe per analyseparameter voor de (fysico-) chemische parameters toe conform WAC/I/A/010.
- Voor de bacteriologische parameters worden steeds aantoonbaar steriele monsterrecipiënten gebruikt.

De werking van chloor in drinkwater wordt geneutraliseerd met een natriumthiosulfaat pentahydraat oplossing cfr. WAC/1/A/010. Dit kan door op aseptische wijze individuele porties natriumthiosulfaat te doseren aan het watermonster in de gevulde steriele monsterrecipiënt, maar bij voorkeur wordt het bemonsterde water rechtstreeks opgevangen (methode A en B; methode C enkel indien monsterrecipiënt van 1 liter wordt toegepast) of overgebracht vanuit de eerste opgevangen liter (methode C indien monsterrecipiënt < 1 liter wordt toegepast) in een voorgedoseerde steriele monsterrecipiënt met natriumthiosulfaat.

- De conservering gebeurt steeds ter plaatse.
Maak bij voorkeur gebruik van voorgeconserveerde monsterrecipiënten.
Toevoeging van conserveermiddelen op het veld is omslachtig, moet vaak in moeilijke (weers-) omstandigheden uitgevoerd worden en is bijgevolg vaak minder nauwkeurig.
- De aard en de houdbaarheid van de conserveermiddelen en/of steriliteit moet vermeld worden op de monsterrecipiënt en moet gerespecteerd worden.

4.6.3 VULVOLGORDE

Bij het vullen van de monsterrecipiënten dienen onderstaande instructies gerespecteerd te worden:

1. Recipiënt(en) bestemd voor vluchtige organische solventen ⁵
2. Recipiënten waarbij zuurstofinbreng de bepaling kan storen (bijv. BZV)
3. Recipiënt(en) zonder conserveringsreagentia

Voor pH en geleidbaarheid kan uit voorzorg een monsterrecipiënt gevuld voor meting in het labo, ingeval de kalibratie en/of controle van de veldmeter(s) na de monsterneming niet voldoet aan de geldende kwaliteitseisen en een meting door het laboratorium nodig is. Het vullen van deze recipiënt is overbodig indien bij elke monsterneming een controlemeting wordt gedaan.

4. Recipiënt(en) met conserveringsreagentia: ook hier dient rekening gehouden te worden met een volgorde van vullen om contaminatie van een volgend monster via de conserveringsreagentia te vermijden.

Voorbeeld: een recipiënt bestemd voor nitraatbepaling mag niet volgen op het vullen van een recipiënt met salpeterzuur. Binnen éénzelfde methode(A, B of C) mag een recipiënt metaalanalyse niet gevuld worden na het vullen van een recipiënt met kaliumdichromaat wegens risico op Cr-contaminatie.

5. Recipiënten voor metingen ter plaatse:
 - a) geleidbaarheid: min. 50 ml water in een meetrecipiënt (indien ter plaatse gemeten)
 - b) opgeloste zuurstof: min. 50 ml water in een meetrecipiënt (indien ter plaatse gemeten)
 - c) vrije en gebonden chloor

⁵ Bij directe monsterneming aan de kraan is het niet noodzakelijk om de recipiënt bestemd voor vluchtige organische solventen als eerste te bemonsteren.

- d) pH en pH-temperatuur min. 50 ml water in een meetrecipiënt (indien ter plaatse gemeten)

Er worden bij voorkeur afzonderlijke meetrecipiënten voor geleidbaarheid en pH gevuld om contaminatie via de elektrode te vermijden (externe contaminatie of via lek van de pH-elektrode). Maar indien gewenst kan het recipiënt waarin geleidbaarheid gemeten is, daarna gebruikt worden voor pH meting.

6. Recipiënt(en) voor bacteriologische analyses: ~~facultatief en~~ enkel geldig in het geval van een monsterneming conform 4.1 en 4.2, ~~met inachtnaam van de specifieke uitvoerinstrucies in verband met monsterneming voor bacteriologische parameters.~~

Alle handelingen bij het vullen moeten zo snel mogelijk na elkaar volgen. Het is dan ook zeker zinvol en tijdsbesparend om de volgorde van monsterrecipiënten kenbaar te maken op de recipiënten (via nummering of codering). Hierbij worden enkel door het laboratorium aangeleverde monsterrecipiënten gebruikt, die proper gestockeerd en lekdicht afgesloten zijn.

Eventuele richtlijnen qua vulling of vulgraad (bijv. geen vrije ruimte laten) in WAC/I/A010 moeten gerespecteerd worden.

Afwijkingen m.b.t. volgorde zijn enkel toegelaten mits duidelijke motivatie ervan in het monsternemingsverslag.

4.6.4 AANDACHTSPUNTEN BIJ HET VULLEN VAN RECIPIËNTEN

Volgende voorzorgen worden in achtgenomen:

- Voor chemische en bacteriologische parameters: hou de flessendop van een geopende monsterrecipiënt bij voorkeur in de hand en indien het echt nodig om hem neer te leggen: dan enkel met de opening naar boven op een propere ondergrond (bijv. op adsorberend papier), zodat contaminatie vanuit de ondergrond wordt vermeden.
- Sluit alle monsterrecipiënt goed af (handgespannen en lekdicht) en controleer dit desgewenst.
- Maak ook de buitenkant van de monsterrecipiënten proper.
- Zorg dat de gevulde recipiënten op de monsternamelocatie afgeschermd worden van direct zonlicht (zie verder §7).
- Breng bij metingen ter plaatse nooit een thermometer of elektrode aan in een recipiënt die bestemd is voor andere analyses.

4.7 RICHTLIJNEN M.B.T. SPECIFIEKE ANALYSEPARAMETERS

4.7.1 PFAS

Wanneer monsternames gebeuren in het kader van PFAS-analyses, moet rekening worden gehouden met volgende richtlijnen:

- In de mate van het mogelijke moet nagegaan worden (bij de leverancier / aan de hand van analyses) of het materiaal gebruikt bij de monsternamem voor analyse op PFAS, PFAS kan bevatten. Een overzicht van mogelijke PFAS-houdende elementen wordt in de checklist, opgenomen in de OVAM-document 'richtlijn PFAS-onderzoek' (www.ovam.be), weergegeven. Er mag enkel monsternamem-apparatuur gebruikt worden waarvan aangetoond is dat ze geen PFAS boven de LOQ uitlogen in het waterstaal.
- Elk rechtstreeks contact met het monster moet worden vermeden, dit houdt ook rechtstreeks contact van het monster met de handschoenen in. Het is bijgevolg noodzakelijk om een gereinigd hulpmiddel te gebruiken om het staal te nemen.
- Reinigen van materiaal:

- o enkel met water van drinkwaterkwaliteit;
 - o bij de toepassing van reinigingsmiddel mag enkel gebruik gemaakt worden van PFAS-vrije detergenten en moet grondig worden nagespoeld. Het gebruik van Deconex is niet toegestaan;
- Waterstalen voor de analyse van PFAS worden niet gefiltreerd.
- Het gebruik van koelelementen wordt toegestaan onder de volgende voorwaarden:
 - o de koelelementen vertonen geen lekken;
 - o alleen harde koelelementen worden toegestaan, de flexibele koelelementen niet omdat ze een grotere kans op scheuren hebben.
- Er wordt geen beperking opgelegd in te dragen regen-, veiligheids- en andere kledij indien aan volgende voorwaarden wordt voldaan:
 - o rechtstreeks contact met het staal moet worden vermeden;
 - o afloop van hemelwater via de kledij in het staal moet worden vermeden;
 - o kledij aangewend bij staalname mag niet worden gewassen met wasverzachter.
- Richtlijnen met betrekking tot conservering en recipiënten zijn opgenomen in de procedure WAC/1/A/010.

5 METINGEN TER PLAATSE

Voor de metingen ter plaatse wordt verwezen naar WAC/I/A/011.

6 VELDREGISTRATIES

Bij elke monsterneming van drinkwater worden ter plaatse veldregistraties gemaakt. Dit kan bijvoorbeeld door gebruik te maken van een 'monsternemingsformulier'. Een voorbeeld van monsternemingsformulier is toegevoegd in Bijlage B.

Ongeacht het opzet of doel van de uitgevoerde monsterneming dienen steeds alle uitgevoerde handelingen m.b.t. verwijderen van koppelstukken, spoelen en desinfecteren geregistreerd te worden op het formulier voor veldregistraties. Afwijkingen van de beoogde methode dienen ook steeds geregistreerd en gemotiveerd (reden van afwijkingen) te worden.

Volgende gegevens dienen minimaal geregistreerd te worden bij de monsterneming:

- identificatie van de monsternemer
- datum en uur van de monsterneming
- plaats en locatie van de monsterneming
- aanduiding/omschrijving/schets van het staalnamepunt (eventueel een foto), met vermelding van het type kraan (koud, warm water, mengkraan bij warm/koud/verbruiksstand,...) met motivatie indien afgeweken werd van de in de methode opgelegde kraan/stand
- opzet en methode van de bemonstering van het drinkwater, inclusief de uitgevoerde handelingen m.b.t. verwijderen van koppelstukken, spoelen en/of reinigen/desinfecteren
- temperatuur van het water bij de monsterneming
- aantal recipiënten gevuld en de gegevens die noodzakelijk zijn voor het identificeren van de monsters zoals vermeld op het etiket
- resultaten van metingen ter plaatse
- afwijkingen t.o.v. de gevolgde methode en de reden van de afwijking

- eventuele opmerkingen en/of (omgevings-)omstandigheden die de monsterneming kunnen beïnvloeden.

7 RAPPORTERING

Van elke monsterneming dient een monsternemingsverslag conform WAC/VI/A/004 opgemaakt te worden.

Naast de nodige gegevens cfr. §5 van WAC/VI/A/004, moet het monsternemingsverslag minimum volgende gegevens bevatten:

- gebruikte methode voor monsterneming, per parameter (ook indien combinatie van verschillende methoden gebruikt werden);
- type kraan dat bemonsterd werd en/of stand waarin deze bemonsterd werd (koud, warm water, mengkraan bij warm/koud/verbruiksstand,...), met motivatie indien afgeweken werd van de in de methode opgelegde kraan/stand

8 TRANSPORT

De maximale bewaartermijnen van watermonsters conform WAC/I/A/010 zijn van toepassing vanaf het tijdstip (datum/uur) van de monsterneming. De monsters dienen dan ook tijdig aan het analyselaboratorium geleverd te worden zodat de houdbaarheid gerespecteerd kan worden. Eventueel moet de monsternemer afspraken maken m.b.t. de levering aan het analyselaboratorium, zodat het laboratorium zich kan houden aan de gestelde houdbaarheidstermijn (bijv. spoedanalyses op voorhand plannen).

Elke blootstelling aan licht en hitte moet ten allen tijde vermeden worden. Gekoeld transport van monsters dient gegarandeerd te zijn door gebruik te maken van koelboxen met voldoende koelelementen of een koelinstallatie. Tijdens het transport mag de temperatuur van een monster⁶ zeker niet stijgen. Monsters met een hoge temperatuur worden hierbij fysisch gescheiden van koele monsters.

Het is zeker zinvol om via een logger het temperatuursverloop tijdens het transport te registreren.

9 REFERENTIES

- WAC/I/A/002, Ogenblikkelijke monsternaming (aan kraan) van water
- WAC/I/A/010, Conservering en behandeling van watermonsters
- WAC/I/A/011, Meting ter plaatse van temperatuur, pH, elektrische geleidbaarheid, opgeloste zuurstof, vrije chloor en gebonden chloor
- NBN EN ISO 5667-1:2022, Water quality - sampling Part 1: Guidance on the design of sampling programmes and sampling techniques.

⁶ Monsters met een temperatuur lager dan 8°C mogen tijdens transport tot maximaal 8°C opwarmen.

- NBN EN ISO 5667-3 :2018 Water quality- sampling Part 3: Guidance on preservation and handling of samples.
- NBN EN ISO 5667-5:2019, Water quality - sampling - Part 5: Guidance on sampling of drinking water and from treatment works and piped distribution systems.
- ISO 19458:2006, Water quality – sampling – General guide for sampling, transport, preservation and handling of samples for bacteriological analysis
- <http://www.afsca.be/autocontrole-nl/informatie/waterkwaliteit/>

10 BIJLAGEN

BIJLAGE A

A.1 Tapkraan bij particulieren of publieke gebouwen (eventueel bij bedrijven)

1. Controleer de kraan op eventuele oxidatieverschijnselen (roest). Indien teveel roest aanwezig is, selecteer dan indien mogelijk een andere tapkraan (bv. in de badkamer).
2. Verwijder alle onderdelen van de kraan die handmatig (zonder hulpmiddelen) kunnen worden verwijderd (bijv. een plastic slangetje). Verwijder zichtbaar aanklevend vuil met een éénmalig te gebruiken papieren doekje.
3. Er wordt aangeraden handschoenen te dragen bij monsternamen voor chemische parameters met conserveringsstoffen
4. Draai de kraan open en vul onmiddellijk de 1 liter monsterfles uit kunststof (dus zonder spoeling, = Random Day Time) voor de bepaling van de metalen. Vermijd hierbij contact tussen kraan en monsterfles.

LET OP: Indien er echter alleen een bacto-fles moet gevuld worden dan dient er pas overgegaan tot monsternamen ná desinfectie van de kraan en ná 5 liter spoeling!!!

5. Giet de inhoud van de 1 liter monsterfles vervolgens over in die recipiënten nodig voor de bepaling van de metalen
6. Vulling van de recipiënten voor andere fysisch-chemische parameters:
 - vulling van de recipiënten voor vluchtige componenten ⁷;
 - vulling van de andere recipiënten: eerst die ZONDER conserveringsstoffen, daarna die MET conserveringsstoffen.
7. Vulling van de recipiënten voor in-situ metingen:
 - het recipiënt voor de meting van pH en geleidbaarheid (en zuurstof indien gevraagd); hiervoor kan hetzelfde 1 liter recipiënt gebruikt worden als bij de staalname van de metalen;
 - vulling van de recipiënten voor metingen van troebelingsgraad, kleur, reuk, smaak en chloorresten (drinkglas of emmer, meetcuvetten,...);
8. Draai de kraan terug dicht (enkel nodig voor bacteriologische parameters, zo niet ga naar punt 12).
9. Desinfecteer de buiten- en de binnenkant van de kraan met alcohol (isopropanol of ethanol) of flambeer de kraan.
10. Spoel daarna 5 liter.

⁷ Bij directe monsternamen aan de kraan is het niet noodzakelijk om de recipiënt bestemd voor vluchtige organische solventen als eerste te bemonsteren.

11. Vul de fles(sen) voor de analyse van bacteriologische parameters.
12. Spoel vervolgens tot constante temperatuur en noteer deze temperatuur van het water
13. Draai de kraan terug dicht (belangrijk: manipulatie van de kraan na eerste opening is enkel toegelaten indien desinfectie nodig is voor de staalname van bacteriologische parameters, zie punt 8 en 9).
14. Na het vullen van alle recipiënten kan men overgaan tot het uitvoeren van de metingen ter plaatse indien gewenst

A.2 Leegloopkraan (dicht bij de watermeter)

1. Controleer of de kraan juist gemonteerd is (tappunt naar beneden). Indien dit niet het geval is, plaats de kraan dan juist.

Opmerking: er wordt geen staal aan de leegloopkraan genomen als de uitstroomopening beschadigd werd tijdens het manipuleren van de kraan.

2. Verwijder zichtbaar aanklevend vuil met een éénmalig te gebruiken papieren doekje.
3. Er wordt aangeraden handschoenen te dragen bij monsternamen voor chemische parameters met conserveringsstoffen
4. Monsternamen voor de metalen:
 - Spoel precies 1 liter en draai hiervoor de kraan open zodat er een zachte waterstraal uitstroomt (debiet waarmee een glas gevuld wordt) en vul onmiddellijk daarna de 1 liter monsterfles uit kunststof voor de bepaling van de metalen.
 - LET OP: Indien er echter alleen een bacto-fles moet gevuld worden dan dient er pas overgegaan tot monsternamen ná desinfectie van de kraan en ná spoeling tot constante temperatuur van het water!!!
5. Giet de inhoud van de 1 liter monsterfles vervolgens over in die recipiënten nodig voor de bepaling van de metalen
6. Spoel tot de temperatuur van het water constant is en noteer deze temperatuur van het water
7. Vulling van de recipiënten voor fysisch-chemische parameters:
 - vulling van de recipiënten voor vluchtige componenten ⁸;
 - vulling van de andere recipiënten: eerst die ZONDER conserveringsstoffen, daarna die MET conserveringsstoffen.
8. Vulling van de recipiënten voor in-situ metingen:
 - het recipiënt voor de meting van pH en geleidbaarheid (en zuurstof indien gevraagd); hiervoor kan hetzelfde 1 liter recipiënt gebruikt worden als bij de staalname van de metalen;
 - vulling van de recipiënten voor metingen van troebelingsgraad, kleur, reuk, smaak en chloorresten (drinkglas of emmer, meetcuvetten,...);

⁸ Bij directe monsternamen aan de kraan is het niet noodzakelijk om de recipiënt bestemd voor vluchtige organische solventen als eerste te bemonsteren.

9. Draai de kraan terug dicht (enkel nodig voor bacteriologische parameters, zo niet ga naar punt 13).
10. Flambeer de kraanmond met een gasbrander (van het uiteinde van de kraan naar de hals van de kraan) indien er een monster dient genomen te worden voor bacteriologische parameters. Desinfecteer de kraan met alcohol als flamberen niet mogelijk is.
11. Spoel opnieuw tot de temperatuur van het water constant is
12. Vul de fles(sen) voor de analyse van bacteriologische parameters
13. Draai de kraan terug dicht (belangrijk: manipulatie van de kraan na eerste opening is enkel toegelaten indien desinfectie nodig is voor de staalname van bacteriologische parameters, zie punt 9 en 10).
14. Na het vullen van alle recipiënten kan men overgaan tot het uitvoeren van de metingen ter plaatse indien gewenst

LET OP: een leegloopkraan wordt steeds vóór een keukenkraan bemonsterd.

BIJLAGE B: VOORBEELD VAN EEN MONSTERNEMINGSFORMULIER

MONSTERNEMINGSFORMULIER (KRANEN VOOR MENSELIJKE CONSUMPTIE)

Monsternemer: _____

Tijdstip monsternamen: datum _____ uur: _____

Monstercode: _____

Algemeen – omschrijving opdracht

Monsternamelocatie: _____

Gebouw - lokaal: _____

Kader monsterneming:

☐ drinkwater voor menselijke consumptie	☐ gezondheidsinspectie	☐ milieuhygiëne	☐ andere: _____
☐ waterleverancier/ drinkwatermij	☐ waterleverancier/ private waterwinning	☐	☐

Doel monsterneming:

☐ geleverde water	☐ geconsumeerde water	☐ risico-evaluatie	☐ andere: _____

Parameter(s)(groepen):

☐ bacteriologische	☐ (fysico-)chemische	☐ beide	☐ andere: _____

Staalnamepunt:

☐ afnamepunt (keuken,...)	☐ leverpunt (watermeter)	☐ douche	☐ andere: _____

Type kraan:

☐ mengkraan	☐ koudwaterkraan	☐ warmwaterkraan	☐ Andere: _____

Type water:

☐ leidingwater	☐ putwater	☐ grondwater	☐ Andere: _____

Monsterneming

Monsternamemethode:

☐ A (geprod. water)	☐ B (ter consumptie)	☐ C (risico-evaluatie cons.)	☐ andere: _____
☐ Tapkraan part/publ	☐ leegloopkraan		

Handelingen:

☐ verwijderen opzet-koppelstukken	☐ reinigen (buitenkant)	☐ reinigen (binnenkant)	☐ andere: _____

Spoelen:

☐ tot constante T: _____ °C ☐ kort ☐ geen ☐ andere: _____ min. spoelen
begin _____ einde _____

Desinfecteren:

☐ n.v.t. ☐ thermisch (flamberen) ☐ Chemisch: _____
(specifieer desinfectans) ☐ andere: _____

Temperatuur bij de monstername: _____ °C

Afwijkingen: _____

opmerkingen _____

Monsterrecipiënten

Aantal gevulde recipiënten: _____

Recipiënten

☐ steriel ☐ niet steriel ☐ _____ ☐

Conservering (neutralisatie) bacteriologische parameters

☐ 1 ml/l 1.8% natriumthiosulf. ☐ 2 ml/l 1.8% natriumthiosulf. ☐ _____ ☐

Opmerkingen:**Metingen ter plaatse**

Parameter: pH : _____ Parameter: _____ : _____

Parameter: _____ : _____ Parameter: _____ : _____

Parameter: _____ : _____ Parameter: _____ : _____

Parameter: _____ : _____ Parameter: _____ : _____

Transport en overdracht**Transport**

☐ monsternemer ☐ opdrachtgever ☐ extern: _____ ☐ andere: _____
☐ gekoeld ☐ niet-gekoeld ☐ ijswater ☐ andere: _____

Overdracht monsters aan: _____

Datum/uur: _____ Handtekening: _____

Opmerkingen: _____

Ogenblikkelijke monstername (aan kraan) van
water

INHOUD

1	Toepassingsgebied_____	4
2	Apparatuur, materiaal, oplossingen_____	4
3	Keuze monsternamepunt en monsternamestrategie_____	5
4	Uitvoering ogenblikkelijke (enkelvoudige) monstername aan een kraan_____	11
4.1	<i>Vorbereiding monstername</i>	11
4.2	<i>Monstername (fysico)chemische parameters</i>	11
4.3	<i>Monstername bacteriologische parameters</i>	11
4.4	<i>Vullen van recipiënten</i>	12
4.4.1	Direct: rechtstreeks aan de kraan_____	13
4.4.2	Indirect: vanuit verzamelemmer (enkel fysico-chemische parameters)_____	13
4.4.3	Vulvolgorde_____	14
4.4.4	Conservering_____	15
4.4.5	Filtraties ter plaatse_____	15
4.5	<i>Aandachtspunten</i>	15
4.6	<i>Richtlijnen m.b.t. specifieke analyseparameters</i>	15
4.6.1	PFAS_____	15
5	Monstername van koel(toren)water aan een kraan m.b.t. de analyse van <i>Legionella</i> spp_____	16
5.1	<i>Vorbereiding monstername</i>	16
5.2	<i>Spoelen en desinfectie</i>	17
5.3	<i>Monstername m.b.t. de analyse van Legionella spp.</i>	17
6	Metingen ter plaatse_____	17
7	Veldregistraties_____	17
8	Rapportering_____	18
9	Transport_____	18
10	Referenties_____	19
11	BIJLAGEN_____	20
	BIJLAGE A : Controle heterogeniteit en monstername van niet-homogeen water in (opslag)tank(wagen)(s)_____	20
A.1	<i>Controle heterogeniteit van (opslag)tank(wagen) en/of opslagrecipiënten</i>	20
A.2	<i>(Meervoudige) monsterneming van niet-homogeen water tijdens vullen of ledigen/leegpompen van een (opslag)tank(wagen)</i>	20
	BIJLAGE B : voorbeeld van een monsternemingsformulier_____	21

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de ogenblikkelijke monsternamen aan een kraan van water dat niet bestemd is voor menselijke consumptie, inclusief de specificaties betreffende conservering, transport en metingen ter plaatse.

Het betreft zowel de monsternamen van afvalwater en tweedecircuitwater (koelwater, proceswater, spoelwater,...) en eventueel ook grond-, oppervlaktewater zolang deze niet binnen het kader van (drink)water voor menselijke consumptie worden bemonsterd.

Deze procedure is niet toepasbaar voor het bemonsteren van stoom.

Deze procedure beschrijft steeds de monsternamen voor (fysico-)chemische en bacteriologische analyses in het laboratorium en m.b.t. metingen ter plaatse van pH, geleidbaarheid, temperatuur, vrije en gebonden chloor en/of opgeloste zuurstof.

Voor deze metingen ter plaatse wordt verwezen naar WAC/I/A/011.

Voor de ogenblikkelijke monsternamen aan kranen van water dat bestemd is voor menselijke consumptie wordt verwezen naar WAC/I/A/001.

2 APPARATUUR, MATERIAAL, OPLOSSINGEN

- 2.1. Voldoende plastic en/of glazen monsterrecipiënten voor de te analyseren parameters (voorgeconserveerd, indien van toepassing), voor (fysico-)chemische **en bacteriologische** parameters. De richtlijnen m.b.t. het minimale volume water, de nodige conserveermiddelen en te gebruiken recipiënten (bijv. plastic, glas,...) per parameter(groep) conform WAC/I/A/010 moeten gerespecteerd worden.

Elke monsterrecipiënt in 2.1 dient voorzien te zijn van een (voorgedrukte) label met vermelding van monstercodering, datum monsterneming, analyseparameter(s) of andere eenduidige identificatie of link naar de analyseparameter(s), dosering en houdbaarheid conserveermiddel (indien noodzakelijk), facultatief aanduiding plaats/locatie van de monsterneming..

- 2.2. Tang en/of sleutel om opzet- of koppelstukken te verwijderen
- 2.3. Beker/recipiënt voor het meten van de temperatuur bij de monsternamen
- 2.4. Emmer(s) voor het opvangen van spoelwater
- 2.5. Absorberend papier
- 2.6. Katoenen watten (kwaliteit voor medisch gebruik)
- 2.7. Draagbare benzinebrander met gasvulling
- 2.8. Aansteker
- 2.9. Vochtige alcoholdoekjes, bijv. isopropanoldoekjes
- 2.10. Desinfectans: ethanol, isopropanol, hypochloriet, of ander gelijkwaardig
- 2.11. Desinfecterende handgel
- 2.12. Persoonlijke beschermingsmiddelen, afhankelijk van de omstandigheden van de monsterneming.

Wegwerphandschoenen en veiligheidsbril (bij het vullen van recipiënten met conserveermiddelen) worden aanbevolen. Bij monsternamen i.k.v. Legionella wordt ademhalingsbescherming FFP3 tegen aerosolen aanbevolen.

- 2.13. Draagbare digitale thermometer of thermokoppel afleesbaar tot op 0,1°C conform WAC/III/A/003. Voor afval en tweedecircuitwater is een meetbereik tot +100°C aanbevolen.
- 2.14. Draagbare pH-meter met elektrode, temperatuursonde en benodigdheden (kalibratie- en controle-oplossingen,...) conform WAC/I/A/011 en WAC/III/A/005 (aanbevolen voor monsternamen van koel(toren)water m.b.t. analyse van *Legionella* spp.)
- 2.15. Monsternemingsformulier
- 2.16. Timer /klok / stopwatch
- 2.17. Koelboxen met voldoende diepgevroren koelelementen of koelinstallatie om gekoeld transport van monsters te garanderen
- 2.18. Temperatuurlogger voor koelbox (aanbevolen)
- 2.19. Fototoestel (facultatief)

3 KEUZE MONSTERNAMEPUNT EN MONSTERNAMESTRATEGIE

Een ogenblikkelijke monstername van water dat niet bestemd is voor menselijke consumptie aan een kraan kan zich voordoen in zeer diverse bemonsteringssituaties: rechtstreeks of aan een zijvertakking van een leidingencircuit, aan kranen van (opslag)recipiënten, tijdens verpompen ... Ook het doeleinde van de monstername kan zeer divers zijn, bijvoorbeeld om het effect nagaan van een behandelingsinstallatie, om de concentratie te bepalen bij toevoeging van chemicaliën, om de kwaliteit van het gebruikte water (inkomende stroom), van influenten, van het circulerende water, van effluënten of van het geloosde water (uitgaande stroom) te bepalen,... Verder is de monstername ook afhankelijk van het (wettelijk) kader (drinkwater, gezondheidsinspectie, sectorale milieuhygiënische bepalingen, ...) en van de te analyseren parameter(s) of parametergroepen. Al deze elementen vormen een belangrijke schakel in de keuze van het monsternamepunt en monsternamestrategie met het oog op een zo goed mogelijke representativiteit van de monstername.

Volgende overwegingen moeten in achtgenomen worden bij aanvang van de monstername en keuze van het monsternamepunt. Deze keuze(s) moet(en) steeds gebeuren in overleg met de productieverantwoordelijke of opdrachtgever.

- a) (Koel- of proces)water in **koeltorens** wordt als volgt bemonsterd (Figuur 1, Figuur 2):
 - i. De monstername wordt uitgevoerd volgens de methode beschreven in §5 aan een kraan of aftappunt na de warmtewisselaar (condensor) of zo dicht mogelijk bij de uitgang van deze warmtewisselaar. Dit is de voorkeursmethode voor het bemonsteren van koel(toren)water.

Een aftappunt/kraan na de warmtewisselaar is niet in alle koelinstallaties beschikbaar, maar mogelijk is er wel een staalnamepunt bij of in (de controlekamer van) de waterbehandelingsinstallatie van het koelwater (installatie bestemd voor anti-corrosie, anti-fouling, anti-scaling dispersanten).
 - ii. Indien twijfel/onzekerheid over de relevantie van het aftappunt in de te bemonsteren koelinstallatie, of er géén relevante kraan of aftappunt aanwezig is, wordt een schepmonster cfr. WAC/1/A/003 genomen uit het vergaarbassin zelf. Dit is een afwijking op de voorkeursmethode, en de reden van afwijking moet steeds gedocumenteerd worden in het monsternemingsformulier en -rapport.

Bij een uitbraak of calamiteit is er vaak weinig tijd om de relevantie en correctheid van de aftappunten in de vaak complexe leidingensystemen te verifiëren (dit vergt bijstand van iemand van het bedrijf met kennis ter zake), en zal vaak – voor een snelle en uniforme uitvoering van de monstername van mogelijke andere nabijgelegen koelinstallaties – een schepmonster uit (of boven) het vergaarbassin cfr. WAC/1/A/003 genomen worden.

- iii. Indien de methode in i) en ii) niet toepasbaar zijn (bijv. gesloten koelsysteem, vergaarbassin niet bereikbaar voor monstername), wordt het continu vallende water opvangen aan de vernevelaar of sprinkler volgens de methode beschreven in §5 van deze WAC.
- iv. De opvolging van de goede werking van een koel(toren)installatie kan uitgebreid worden met de monstername van het inkomende oppervlaktewater en van de lozing op het oppervlaktewater. Deze worden uitgevoerd als schepmonster (oppervlaktewater) cfr. WAC/I/A/003.

De aanwezigheid van biociden, anticorrosie- anti-scaling of anti-fouling producten op het moment van de monstername moet worden nagevraagd en worden gedocumenteerd op het monsternemingsformulier en -verslag. Indien gekend, wordt tevens het tijdstip van de laatste dosering genoteerd. Een monstername van koel(toren)water m.b.t. de analyse van *Legionella* spp. is pas zinvol als deze minimaal 48h na de laatste shockdosering van biocide uitgevoerd wordt¹.

Ongeacht het type monstername dat werd uitgevoerd (kraan, schep, vallend water) wordt het aanbevolen om de pH van het koel(toren)water bijkomend (in situ) te meten². Met deze informatie kan de beheerder van de koelinstallatie ingrijpen als de gemeten pH buiten het werkingsgebied van het biocide ligt.

(Koel- of proces)water in **luchtvochtigheidsbehandelingen met waterinjectie** wordt bemonsterd in de vergaarbak:

- v. Indien de waterhoogte in de vergaarbak meer dan 20 cm bedraagt, wordt een schepmonster genomen cfr. WAC/1/A/003 §5 en §5.2.
 - vi. Indien de waterhoogte in de vergaarbak minder dan 20 cm bedraagt, wordt het koelwater voorzichtig opgepompt d.m.v. een steriele hand- of peristaltische pomp cfr. WAC/1/A/003 §5 en §5.3.
- b) Voor **andere monsternamesituaties m.b.t. water dat niet voor menselijke consumptie** is bestemd (Figuur 1): kies het monsternamepunt op een plaats waar het representatief is voor het te bemonsteren water en het doel van de monstername, met andere woorden dat de monstername toelaat om de samenstelling, of wijzigingen in de samenstelling, te bepalen, bijvoorbeeld:
- bij toevoeging van chemicaliën of bij mengstromen wordt het monsternamepunt gekozen op de plaats waar volledige menging kan verondersteld worden. Vaak kan dit bewerkstelligd worden door stroomafwaarts te bemonsteren of na een deel van het leidingcircuit dat turbulentie opwekt (bv. klep, pomp, bocht in leiding).
 - als het effect van een bepaalde behandelingeninstallatie (bijv. zuivering, ontsmetting) moet worden nagegaan wordt vlak voor en vlak na de installatie een monsternamepunt gezocht.
 - indien de toevoeging van chemicaliën discontinu in het proces wordt uitgevoerd, is, naast het monsternamepunt, ook het tijdstip van monstername belangrijk: het effect wordt dan nagegaan bij het einde van een toevoegcyclus (d.w.z. vlak voor een nieuwe dosering).
- c) De monstername gebeurt bij voorkeur vanuit monstername- of aftappunt met stromend water. De stroming en turbulenties in de waterstroom zullen ervoor zorgen dat deeltjes en/of

¹ Indien enkel een continue dosering van biocide wordt uitgevoerd, is deze termijn niet van toepassing.

² Indien de pH niet in situ gemeten wordt bij de monstername, kan de aflezing van de pH van het waterbehandelingsproces ook nuttige informatie geven over het werkingsgebied van het biocide.

verontreinigingen homogeen verdeeld geraken. Bij stilstaand water is dit niet het geval en zal er voornamelijk in verticale richting heterogeniteiten optreden.

- d) Gebruik bij voorkeur bestaande monsternamapunten om vergelijking van resultaten toe te laten, tenzij het bestaande monsternamapunt niet compatibel/geschikt is voor het beoogde doel van de monsternamename en/of geschikt voor de te analyseren parameter(groepen).
- e) Vermijd monsternamapunten op horizontale leidingen, of waar terugloop van vloeistoffen is.
- f) Vermijd vuile, bestoft of gecorrodeerde kranen en kranen die te dicht bij de grond liggen (contaminatierisico), of lekkende aansluitingen boven het monsternamapunt/kraan.

De monsternamestrategie moet aansluiten met de best mogelijke keuze van het monsternamapunt. Hierbij worden onderstaande richtlijnen gegeven (schematisch weergegeven in Figuur 1):

- a) De ogenblikkelijke monsternamename aan een kraan van stromend water in een leidingcircuit wordt uitgevoerd via een **enkelvoudige monsternamename** (d.w.z. de monsternamename wordt op een bepaald tijdstip en in één handeling uitgevoerd). Deze monsternamename kan ook toegepast worden op stilstaand water in een leidingcircuit, maar enkel na spoelen (3x) van het stagnerende watervolume.

Het monster van een enkelvoudige monsternamename aan een kraan van een leidingcircuit is dan representatief voor de waterkwaliteit op het moment en plaats van de uitgevoerde monsternamename.

- b) Een ogenblikkelijke (enkelvoudige) monsterneming aan een kraan is ook toepasbaar bij het bemonsteren van aftapkranen of -leidingen bij opslagtanks, tankwagens- of opslageenheden voor vloeistoffen in het algemeen, op voorwaarde dat de inhoud van de (opslag)tank(wagen) homogeen verondersteld kan worden, d.w.z. dat er geen bezinkbare of drijvende delen en/of stratificatie van vloeistofflagen aanwezig is, of dat er gemengd kan worden voor aanvang van de monsterneming. Het mengen kan gebeuren door mengers of door een rondpompcircuit dat zorgt voor de nodige circulatie en menging (min. 15 min voor aanvang van de monsternamename). De enkelvoudige monsternamename is in deze gevallen representatief voor het totale inhoud van de opslageenheid.

Noteer in dat geval de vulgraad of vulhoogte van de opslageenheid.

Registreer de vaststelling van homogeniteit (zie Bijlage A.1) of aanwezigheid en werking van menger(s) en rondpompcircuit op het monsternemingsformulier.

De uitvoering van de enkelvoudige monsterneming aan de kraan is beschreven in §4. Deze algemene methode komt overeen met scenario B van de monsternamename van drinkwater conform (WAC/1/A/001) waarbij het water bemonsterd zoals het gebruikt wordt in het proces.

Indien van de monsternamename eerder gericht is op risico-evaluatie van het proces- of afvalwater wordt de monsternamename uitgevoerd conform scenario C van WAC/1/A/001.

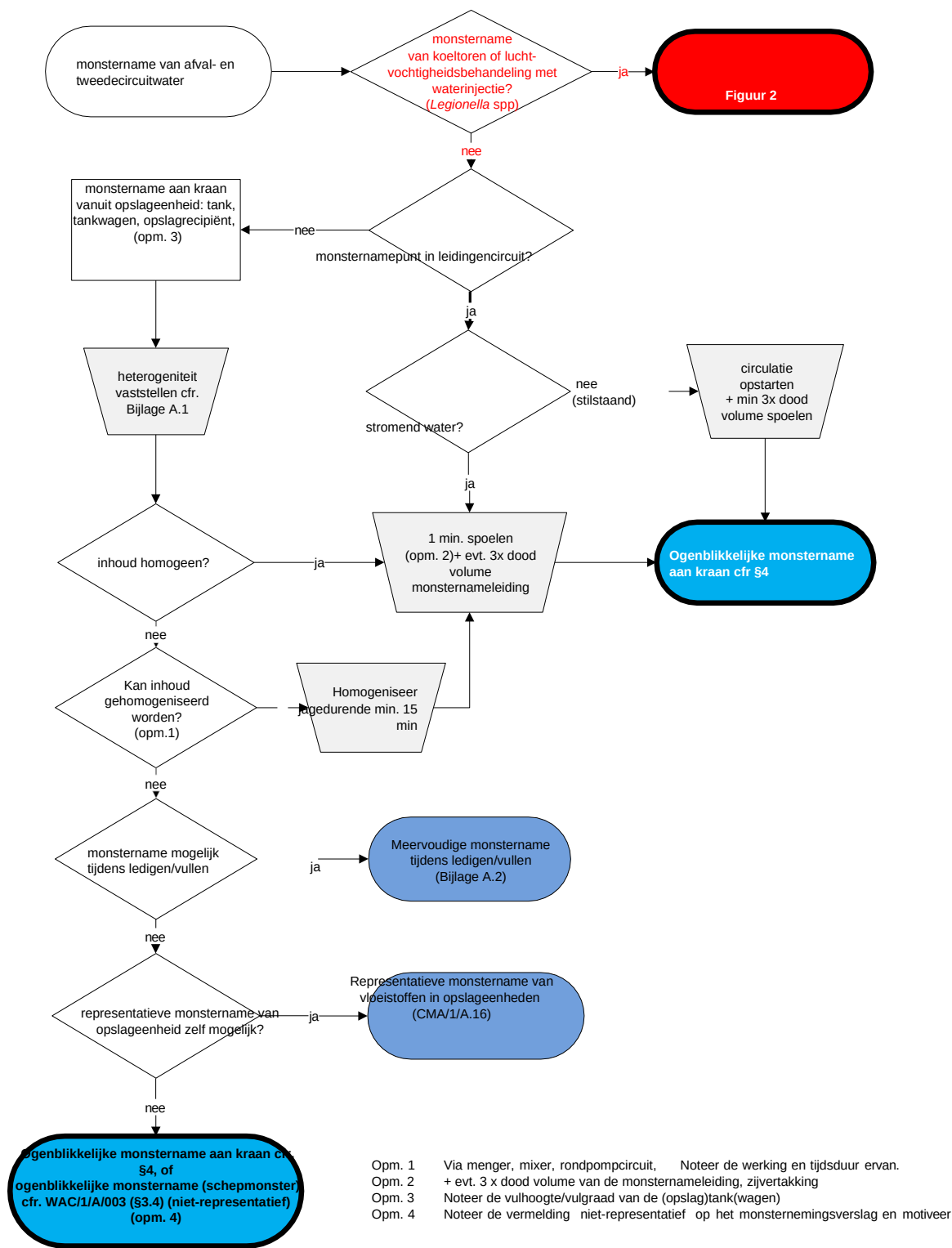
Indien het doel van de monsternamename is om de kwaliteit van het geleverde water te bepalen, wordt de monsternamename uitgevoerd conform scenario A van WAC/1/A/001.

De methode-referenties zijn dan respectievelijk scenario A of B of C van WAC/1/A/002.

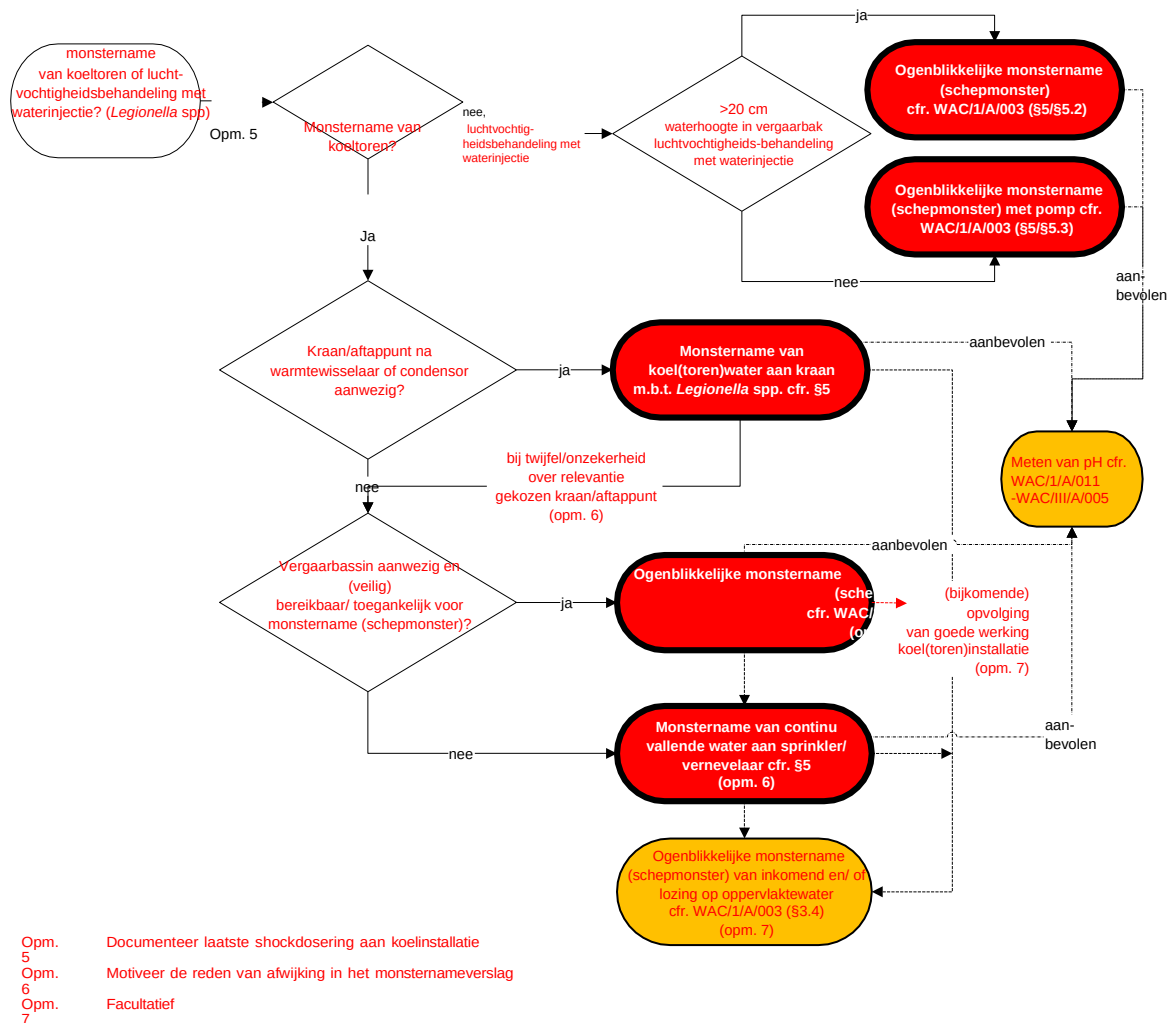
De scenario's zijn verschillend van elkaar m.b.t. het al dan niet toepassen van de randvoorwaarden (verwijderen opzetstukken - spoelen - desinfecteren) en in de volgorde van de te bemonsteren parametergroepen. Voor alle andere situaties of bij combinatie parametergroepen die in een bepaald scenario niet tezamen bepaald kunnen worden (bijv. scenario C van WAC/1/A/001) kan, mits doordachte keuze van het monsternamapunt, een combinatie van meerdere scenario's aangewend kan worden, of een aanpassing van een specifieke handeling/randvoorwaarde uitgevoerd worden in functie van het beoogde doel van de monsternamename mits registratie en rapportering van de uitgevoerde monsternamemethode en handeling/randvoorwaarden.

- c) Indien de inhoud van de opslageenheid niet homogeen is of gemaakt kan worden, volstaat een ogenblikkelijke (enkelvoudige) monstername niet om de representativiteit te garanderen, en wordt een **meervoudige monstername aan de kraan** uitgevoerd. Dit is een monstername in 3 handelingen (grepen) tijdens het vullen of ledigen van de tank bij 20%, 50 en 80% van de tankinhoud, en is per definitie geen ogenblikkelijke monstername meer. Een beschrijving van de uitvoering wordt gegeven in Bijlage A.2. Deze monstername is steeds representatief voor het totale volume van het water dat verplaatst werd.
- d) Indien de meervoudige monstername van een opslageenheid met inhoud die niet homogeen is, niet toegepast kan worden tijdens het vullen of ledigen van de opslageenheid, kan een representatief monster rechtstreeks in de opslageenheid genomen worden conform CMA/1/A.16.
- e) Indien de uitvoering van een meervoudige (c) representatieve monstername cfr. CMA/1/A.16 rechtstreeks uit de opslageenheid met inhoud die niet homogeen is, niet mogelijk is, bijvoorbeeld omwille van toegankelijkheid/veiligheid, en er toch een monster moet worden genomen, kan overgegaan worden tot een ogenblikkelijke (enkelvoudige) monstername aan de kraan van de opslageenheid conform §4, of een ogenblikkelijk schepmonster cfr. WAC/1/A/003.
- In deze situatie biedt een ogenblikkelijke monstername geen garanties meer over de representativiteit van het monster ten opzichte van de volledige (opslag)tank(wagen). Op het monsternemingsformulier en monsternemingsverslag wordt de vermelding "ogenblikkelijke monstername aan kraan – niet-representatief" toegevoegd.

De toegepaste monsternamemethode moet altijd vermeld worden op het analyse- of monsternemingsverslag. Indien een combinatie van meerdere methoden toegepast werden, moet in het analyse- of monsternemingsverslag duidelijk zijn welke methode voor welke parameters gebruikt werd.



Figuur 1: stroomschema monstername (water dat niet geschikt is voor menselijke consumptie)



Figuur 2: stroomschema monstername van koeltoren of luchtvochtigheidsbehandeling met waterinjectie (*Legionella* spp.)

4 UITVOERING OGENBLIKKELIJKE (ENKELVOUDIGE) MONSTERNAME AAN EEN KRAAN

4.1 VOORBEREIDING MONSTERNAME

- 1) Documenteer en beschrijf het bemonsterde water, de bemonsteringssituatie (leidingcircuit, stilstaand, stromend, (opslag)tank(wagen), menger/mixer, rondpompcircuit/circulatiemogelijkheid en het gekozen staalnamepunt (adres/lokaal of situering in productie, stromen, schets, GPS-coördinaten, ...) eenduidig op het monsternemingsformulier.
- 2) Verwijder alle opzet- en/of koppelstukken (indien aanwezig) die manueel of m.b.v. een tang/sleutel eenvoudig losgemaakt kunnen worden (enkel uitvoeren in overleg met de productieverantwoordelijke!).
Verwijder zichtbaar aanklevend vuil met (water) bevochtigd absorberend papier (eenmalig te gebruiken). Maak ook de binnenkant van de kraan schoon met bevochtigd papier.
- 3) Draag minimaal wegwerphandschoenen (eenmalig te gebruiken).

Indien de bemonstering uitgevoerd wordt in het kader van een *Legionella* uitbraak, is het aangewezen om een ademhalingsbescherming FFP3 masker tegen aerosolen te dragen.
- 4) Open de kraan ³ (bij voorkeur bij eenzelfde debiet als het stromende water in de leiding) en spoel minimaal 1 minuut (indien de kraan rechtstreeks op het leidingcircuit met stromend water geïnstalleerd is), of minimaal 3 keer het dood volume⁴ van de staalnameleiding in alle andere gevallen, met een maximum van 50 liter.
Vang het spoelwater op in een emmer. Sluit de kraan pas na de monstername.
Noteer de hoeveelheid spoelwater (bij benadering) op het monsternemingsformulier.
- 5) Indien uitsluitend (fysico-)chemische parameters bepaald moeten worden, ga verder naar 4.2.
Indien uitsluitend bacteriologische parameters bepaald moeten worden ga verder naar 4.3

4.2 MONSTERNAME (FYSICO)CHEMISCHE PARAMETERS

- 6) Regel de kraan op half debiet (indien mogelijk) en vul de monsterrecipiënten voor fysico-chemische parameters conform §4.4. Voor homogeen water (grond- oppervlakte en tweedecircuitwater zonder deeltjes), worden de monsterrecipiënten rechtstreeks aan de kraan gevuld conform §4.4.1. Voor afvalwater of heterogeen water, worden de monsterrecipiënten indirect vanuit een verzamelemmer gevuld conform §4.4.2.
- 7) Indien geen bacteriologische parameters bepaald moeten worden, ga verder naar 11)

4.3 MONSTERNAME BACTERIOLOGISCHE PARAMETERS

- 8) Overleg met de (productie)verantwoordelijke welke desinfectiemethode kan en/of mag toegepast worden in de gegeven bemonsteringssituatie. Sluit en desinfecteer de kraan.
Het desinfecteren kan thermisch uitgevoerd worden door bijvoorbeeld de binnenkant en het uiteinde van de kraan gedurende 30 seconden te verhitten (zonder wegwerphandschoenen!) met een draagbare bunzenbrander of door een in ethanol of isopropanol gedrenkte prop

³ Niet van toepassing voor continu stromende kranen.

⁴ Dood volume is het volume van het leidingcircuit vanaf de wateropslag of leidingnet met stromend water tot aan kraan waaraan bemonsterd wordt (inclusief het volume van deze kraan).

watten in de uitstroomopening van de kraan te plaatsen en deze met een aansteker in brand te steken.

Indien de kraan geveerd is of uit kunststof(onderdelen) bestaat, wordt gedesinfecteerd door de buiten -en binnenkant te bevochtigen met ethanol, isopropanol of ander desinfectans, en vervolgens binnen- en buitenkant droog te vegen met adsorberend papier.

Documenteer de toegepaste desinfectiemethode (ook indien geen desinfectie toegepast wordt, mogelijk in kader van het doel van het onderzoek of omwille van veiligheidsoverwegingen).

- 9) Open de kraan en spoel (mag bij volledig debiet) kort na het desinfecteren om de invloed van het thermisch effect ongedaan te maken of om resten van het desinfectans ongedaan te verwijderen.
- 10) Zet de kraan op half debiet geopend en vul de steriele monsterrecipiënt(en) (met of zonder conservering) voor bacteriologische parameters rechtstreeks aan de kraan conform §4.4 en §4.4.1.
- 11) Vul aansluitend een bijkomende beker of recipiënt voor het meten van de temperatuur bij de monsterneming met behulp van een digitale thermometer. Noteer de temperatuur.
- 12) Sluit de kraan ⁵.
Monteer eventueel verwijderde opzet- en/of koppelstukken.

4.4 VULLEN VAN RECIPIËNTEN

- De kraan wordt niet meer gesloten tussen het spoelen van de leiding en/of het voorspoelen en de (directe of indirecte) monsterneming zelf.
- Hou de waterstraal voor het vullen van monsterrecipiënten of verzamelemmer steeds bij half debiet aan om inslag van luchtbelletjes te vermijden.
- Draag propere (nieuwe) wegwerphandschoenen bij het homogeniseren en vullen van monsterrecipiënten. Een veiligheidsbril wordt aanbevolen.
- Meestal moet het water opgevangen worden in meer dan één monsterrecipiënt, afhankelijk van de te analyseren parameters of parametergroepen, en al dan niet met een conserveermiddel.
 - o Indien het homogeen water betreft, zoals grond- oppervlakte en tweedecircuitwater zonder deeltjes, wordt het vullen van de recipiënten direct aan de kraan uitgevoerd volgens §4.4.1.
 - o Indien het afvalwater of heterogeen water betreft, wordt het vullen van de recipiënten voor (fysico-)chemische parameters indirect vanuit een verzamelemmer uitgevoerd volgens §4.4.2.

De recipiënt(en) voor bacteriologische analyses bij afval- of heterogeen water worden steeds direct, rechtstreeks aan de kraan gevuld volgens §4.3 en §4.4.1.

Vul de verschillende monsterrecipiënten in een welbepaalde volgorde om contaminaties en/of verliezen van het conserveermiddel te vermijden. Volg hierbij de instructies m.b.t. de volgorde (§4.4.3), conservering (§4.4.4) en eventuele filtraties ter plaatse (§4.4.5) bij de analyse van opgeloste bestanddelen.

- Vermijd overvullen of overlopen van voorgeconserveerde monsterrecipiënten om verlies van het conserveermiddel te vermijden.

⁵ Niet van toepassing voor continu stromende kranen (hieronder worden ook continue sproeisystemen, vernevelaars, sprinklers, etc gerekend).

Bij overvulling moet steeds een nieuwe monsterrecipiënt voor de parameter(s) in kwestie gevuld worden. Zorg dus steeds voor voldoende extra monsterrecipiënten van de te analyseren parameters.

4.4.1 DIRECT: RECHTSTREEKS AAN DE KRAAN

- De verschillende monsterrecipiënten worden in vlotte opeenvolgende bewegingen rechtstreeks aan de lopende kraan gevuld. De kraan blijft tussen de monsterrecipiënten in, lopen. Ook de eventuele opeenvolging van monsternamen voor (fysico-)chemische en bacteriologisch parameters moet opeenvolgend en binnen een redelijke tijdsperiode (bijv. 10 min.) uitgevoerd worden, om wijzigingen in de kwaliteit van het kraanwater zo beperkt mogelijk te houden.
- Open de verschillende monsterrecipiënten één voor één, telkens net voor het vullen van de recipiënt in kwestie. Indien twee identieke monsters dienen gevuld te worden (bijv. monster - tegenmonster), open dan de twee recipiënten tegelijk en vul afwisselend kleine hoeveelheden tot beide recipiënten gevuld zijn.
- Vermijd rechtstreeks contact van de monsterrecipiënt met de kraan om directe contaminatie van de buitenkant van kraan naar het water (bijv. voor bacteriologie) of indirecte contaminatie van de monsterrecipiënt (conserveermiddel) naar de buitenkant van de kraan en vervolgens naar de volgende monsterrecipiënt, uit te sluiten.

4.4.2 INDIRECT: VANUIT VERZAMELEMMER (ENKEL FYSICO-CHEMISCHE PARAMETERS)

- Laat het water van de kraan in een verzamelemmer lopen tot ongeveer 1.5 x het volume van alle te vullen monsterrecipiënten voor deze monsternamen. De verzamelemmer wordt zo gevuld dat er voldoende ruimte is (± 10 cm) om te kunnen homogeniseren met een maatbeker.
- Het homogeniseren en vullen wordt uitgevoerd met behulp van een propere (maat)beker met uitgietsluit en handvat. De diameter van de maatbeker moet in verhouding zijn met het mengvat. Homogeniseer het verzamelmonster door zachte horizontale en verticale zwenkende bewegingen met een maatbeker in de emmer uit te voeren.
Het is niet toegelaten om ten behoeve van het homogeniseren de maatbeker te vullen en terug in de emmer uit te gieten omdat op deze manier te veel zuurstof in het verzamelmonster wordt gebracht.
- Vul één voor één de monsterrecipiënten vanuit de verzamelemmer met behulp van deze maatbeker, en waarbij de volgorde gerespecteerd wordt (zie §4.4.3). Vanuit elke gevulde (maat)beker wordt slechts één monsterrecipiënt gevuld.
Gooi het restant in maatbeker telkens weg na het vullen van een recipiënt.
Indien identieke monsterrecipiënten (zelfde conservering) dienen gevuld te worden, open dan deze recipiënten tegelijk en vul afwisselend kleine hoeveelheden tot de recipiënten gevuld zijn. Elke keer dat opnieuw geschapt wordt met de maatbeker, moet de hele inhoud van de verzamelemmer weer gehomogeniseerd worden.
- De maatbeker mag bij het vullen de hals van de monsterrecipiënt niet raken (risico op contaminatie van verzamelmonster met maatbeker vanuit het conserveermiddel dat mogelijk aan de hals kleeft).
- Hou de te vullen monsterrecipiënt nooit boven de verzamelemmer zodat bij eventueel overlopen van monsterrecipiënten met conserveermiddel, kan vermeden worden dat het verzamelmonster gecontamineerd raakt door conserveermiddel
- Tussen het vullen wordt de (maat)beker in de verzamelemmer gelegd; in geen geval mag deze (maat)beker tussendoor op de grond geplaatst worden.

4.4.3 VULVOLGORDE

Bij het vullen van de monsterrecipiënten dienen onderstaande instructies gerespecteerd te worden:

1. Recipiënt(en) bestemd voor vluchtige organische solventen ⁶
2. Recipiënten waarbij zuurstofinbreng de bepaling kan storen (bijv. BZV)
3. Recipiënt(en) zonder conserveringsreagentia

Voor pH en geleidbaarheid wordt uit voorzorg een monsterrecipiënt gevuld voor meting in het labo, ingeval de kalibratie en/of controle van de veldmeter(s) na de monsterneming niet voldoet aan de geldende kwaliteitseisen en een meting door het laboratorium nodig is.

4. Recipiënt(en) met conserveringsreagentia: ook hier dient rekening gehouden te worden met een volgorde van vullen om contaminatie van een volgend monster via de conserveringsreagentia te vermijden.

Voorbeeld: en recipiënt bestemd voor nitraatbepaling mag niet volgen op het vullen van een recipiënt met salpeterzuur. Een recipiënt metaalanalyse mag niet gevuld worden na het vullen van een recipiënt met kaliumdichromaat wegens risico op Cr-contaminatie.

5. Recipiënten voor metingen ter plaatse:
 - α) geleidbaarheid: min. 50 ml water in een meetrecipiënt (indien ter plaatse gemeten)
 - β) opgeloste zuurstof: min. 50 ml water in een meetrecipiënt (indien ter plaatse gemeten)
 - χ) vrije en gebonden chloor
 - δ) pH en pH-temperatuur min. 50 ml water in een meetrecipiënt (indien ter plaatse gemeten)

Er worden bij voorkeur afzonderlijke meetrecipiënten voor geleidbaarheid en pH gevuld om contaminatie via de elektrode te vermijden (externe contaminatie of via lek van de pH-elektrode). Maar indien gewenst kan het recipiënt waarin geleidbaarheid gemeten is, daarna gebruikt worden voor pH meting.

6. Recipiënt(en) voor bacteriologische analyses (bij directe monsternamen aan kraan⁷).

Indien de monsternamen volgens een andere scenario of methode bemonsterd werd dan beschreven in §4, kan het zijn dat van deze volgorde moet worden afgeweken.

Alle handelingen bij het vullen moeten zo snel mogelijk na elkaar volgen. Het is dan ook zeker zinvol en tijdsbesparend om de vulvolgorde van monsterrecipiënten kenbaar te maken op de recipiënten (via nummering of codering). Hierbij worden enkel door het laboratorium aangeleverde monsterrecipiënten gebruikt, die proper gestockeerd en lekdicht afgesloten zijn.

Eventuele richtlijnen qua vulling (bijv. geen vrije ruimte) in WAC/I/A/010 moeten gerespecteerd worden.

Afwijkingen m.b.t. vulvolgorde zijn enkel toegelaten mits duidelijke motivatie ervan in het monsternemingsverslag.

⁶ Bij directe enkelvoudige monsternamen aan de kraan is het niet noodzakelijk om de recipiënt bestemd voor vluchtige organische solventen als eerste te bemonsteren.

⁷ vulvolgorde niet toepasbaar bij de indirecte deelmonsternamen vanuit de verzamelemmer

4.4.4 CONSERVERING

- Voeg de nodige bewaar- of conserveermiddelen toe per analyseparameter voor de (fysico-) chemische parameters toe conform WAC/I/A/010.
- Voor bacteriologische parameters worden steeds steriele monsterrecipiënten gebruikt. Indien het te bemonsteren water oxidanten bevat (chloor, broom, ozon,...), moeten de werking ervan bovendien geneutraliseerd worden met natriumthiosulfaatpentahydraat-oplossing cfr. WAC/1/A/010. Dit kan door op aseptische wijze individuele porties natriumthiosulfaat te doseren aan het watermonster in de gevulde steriele monsterrecipiënt, maar bij voorkeur wordt het water rechtstreeks opgevangen in een voorgedoseerde steriele monsterrecipiënt met natriumthiosulfaat.
- De conservering gebeurt steeds ter plaatse.
Maak bij voorkeur gebruik van voorgeconserveerde monsterrecipiënten. Toevoeging van conserveermiddelen op het veld is omslachtig, moet vaak in moeilijke (weers)omstandigheden uitgevoerd worden en is bijgevolg vaak minder nauwkeurig.
- De aard en de houdbaarheid van de conserveermiddelen en/of steriliteit moet vermeld worden op de monsterrecipiënt en moet gerespecteerd worden.

4.4.5 FILTRATIES TER PLAATSE

WAC/1/010 vermeldt voor bepaalde opgeloste parameters in oppervlaktewater en afvalwater dat de watermonsters ter plaatse gefiltreerd moeten worden met een 0,45 µm spuitfilter. De filtratie wordt vlak voor het vullen van de monsterrecipiënt voor de opgeloste parameter in kwestie, uitgevoerd rekening houdend met de vulvolgorde vermeld in §4.4.3. Het filtraat wordt rechtstreeks in de desbetreffende monsterrecipiënt opgevangen.

4.5 AANDACHTSPUNTEN

Volgende voorzorgen worden in achtgenomen:

- Voor chemische en bacteriologische parameters: hou de flessendop van een geopende monsterrecipiënt bij voorkeur in de hand en indien het echt nodig om hem neer te leggen: dan enkel met de opening naar boven op een propere ondergrond (bijv. op adsorberend papier), zodat contaminatie vanuit de ondergrond wordt vermeden. .
- Sluit alle monsterrecipiënt goed af (handgespannen en lekdicht) en controleer dit desgewenst.
- Maak ook de buitenkant van de monsterrecipiënten proper.
- Zorg dat de gevulde recipiënten op de monsternamelocatie afgeschermd worden van direct zonlicht (zie verder §9).
- Breng bij metingen ter plaatse nooit een thermometer of elektrode aan in een recipiënt die bestemd is voor andere analyses.

4.6 RICHTLIJNEN M.B.T. SPECIFIEKE ANALYSEPARAMETERS

4.6.1 PFAS

Wanneer monsternames gebeuren in het kader van PFAS-analyses, moet rekening worden gehouden met volgende richtlijnen:

- In de mate van het mogelijke moet nagegaan worden (bij de leverancier / aan de hand van analyses) of het materiaal gebruikt bij de monstername voor analyse op PFAS, PFAS kan

bevatten. Een overzicht van mogelijke PFAS-houdende elementen wordt in de checklist, opgenomen in de OVAM-document 'richtlijn PFAS-onderzoek'(www.ovam.be), weergegeven. Er mag enkel monstername-apparatuur worden gebruikt waarvan aangetoond is dat ze geen PFAS boven de LOQ uitlogen in het waterstaal.

- Elk rechtstreeks contact met het monster moet worden vermeden, dit houdt ook rechtstreeks contact van het monster met de handschoenen in. Het is bijgevolg noodzakelijk om een gereinigd hulpmiddel te gebruiken om het staal te nemen.
- Reinigen van materiaal:
 - o enkel met water van drinkwaterkwaliteit;
 - o bij de toepassing van reinigingsmiddel mag enkel gebruik gemaakt worden van PFAS-vrije detergents en moet grondig worden nagespoeld. Het gebruik van Deconex is niet toegestaan;
- Waterstalen voor de analyse van PFAS worden niet gefiltreerd.
- Het gebruik van koelelementen wordt toegestaan onder de volgende voorwaarden:
 - o de koelelementen vertonen geen lekken;
 - o alleen harde koelelementen worden toegestaan, de flexibele koelelementen niet omdat ze een grotere kans op scheuren hebben.
- Er wordt geen beperking opgelegd in te dragen regen-, veiligheids- en andere kledij indien aan volgende voorwaarden wordt voldaan:
 - o rechtstreeks contact met het staal moet worden vermeden;
 - o afloop van hemelwater via de kledij in het staal moet worden vermeden;
 - o kledij aangewend bij staalname mag niet worden gewassen met wasverzachter.
- Richtlijnen met betrekking tot conservering en recipiënten zijn opgenomen in de procedure WAC/1/A/010.

5 MONSTERNAME VAN KOEL(TOREN)WATER AAN EEN KRAAN M.B.T. DE ANALYSE VAN *LEGIONELLA* SPP.

5.1 VOORBEREIDING MONSTERNAME

- 1) Documenteer en beschrijf het bemonsterde water, de bemonsteringssituatie (kraan na warmtewisselaar, aftappunt waterbehandelingssysteem, vernevelaar, sprinkler,...) en het gekozen staalnamepunt (adres/lokaal of situering in productie bijv. identificatie kraan, waterstromen, schets, GPS-coördinaten, ...) eenduidig op het monsternemingsformulier. Informeer bij de productieverantwoordelijke wanneer laatst biocide gedoseerd werd en rapporteer deze informatie. **De monstername is pas zinvol als deze min. 48h na de laatste shockdosing van biocide uitgevoerd wordt¹.**
- 2) Voorzie een steriele monsterrecipiënt voor de analyse van *Legionella* spp. cfr. WAC/1/A/010.

Voor de analyse van *Legionella* spp. worden steeds steriele monsterrecipiënten gebruikt met 0,2 ml 1,8% natriumthiosulfaat pentahydraat oplossing voor elke 100 ml volume van de monsterrecipiënt.
- 3) Draag minimaal wegwerphandschoenen (eenmalig te gebruiken). Indien de bemonstering uitgevoerd wordt in het kader van een *Legionella* uitbraak of in besloten ruimtes met aërosolen, is het aangewezen om een ademhalingsbescherming FFP3 masker tegen aërosolen te dragen. Vermijd om in besloten ruimtes met aërosolen te treden om de monstername uit te voeren (bijv. monstername van het vallende water), maar maak – indien mogelijk – gebruik van een verlengstok of -arm waarin de monsterrecipiënt geplaatst kan worden.

5.2 SPOELEN EN DESINFECTIE

- 4) Verwijder (indien aanwezig) losse opzetstukken die geen deel uit maken van het koelwaterproces. Verwijder zichtbaar aanklevend vuil met (water) bevochtigd absorberend papier (eenmalig te gebruiken).
- 5) Open de kraan op een beheersbaar debiet en spoel minimaal 3 keer het dood volume van de kraan of (staalname)leiding tot aan de koelwaterleiding, met een minimum van 10 liter en maximum 50 liter.
Vang het spoelwater op in (een) emmer(s).
Documenteer het spoelproces en het spoelvolumen.
- 6) Bij voorkeur wordt gedesinfecteerd door de buiten -en binnenkant te bevochtigen met ethanol, isopropanol of ander desinfectans, en vervolgens binnen- en buitenkant droog te vegen met adsorberend papier.
Sluit en desinfecteer de kraan. Documenteer de toegepaste desinfectiemethode (ook indien geen desinfectie toegepast wordt, mogelijk in kader van het doel van het onderzoek of omwille van veiligheidsoverwegingen).

5.3 MONSTERNAME M.B.T. DE ANALYSE VAN *LEGIONELLA* SPP.

- 7) Spoel kort na het desinfecteren om de invloed van het thermisch effect ongedaan te maken of om resten van het desinfectans ongedaan te verwijderen.
- 8) Zet de kraan op een beheersbaar debiet open en vul de steriele monsterrecipiënt(en) rechtstreeks aan de kraan.
- 9) Vul aansluitend een bijkomende beker of recipiënt voor het meten van de temperatuur bij de monsterneming met behulp van een digitale thermometer.
Noteer de temperatuur bij de monstername onmiddellijk op het monsternemingsformulier; het is voornamelijk belangrijk dat de temperatuur zo snel mogelijk na de monstername gemeten en afgelezen wordt voordat deze beïnvloedt kan worden door de omgevingstemperatuur.
- 10) Het meten van de pH van het koel(toren)water wordt aanbevolen (zie §3 a). Vul hiervoor aansluitend een meetrecipiënt voor pH. Noteer de pH.
- 11) Sluit de kraan⁵. Monteer eventueel verwijderde opzet- en/of koppelstukken. Vervolledig de nodige veldregistraties cfr. §7.

6 METINGEN TER PLAATSE

Voor de metingen ter plaatse wordt verwezen naar WAC/I/A/011.

7 VELDREGISTRATIES

Bij elke monsterneming van water worden ter plaatse veldregistraties gemaakt. Dit kan bijvoorbeeld door gebruik te maken van een 'monsternemingsformulier'.
Een voorbeeld van monsternemingsformulier is toegevoegd in Bijlage B.

Ongeacht het opzet of doel van de uitgevoerde monsterneming dienen steeds alle uitgevoerde handelingen m.b.t. verwijderen van koppelstukken, spoelen en desinfecteren geregistreerd te worden op het formulier voor veldregistraties. Afwijkingen van de beoogde methode dienen ook steeds geregistreerd en gemotiveerd (reden van afwijkingen) te worden.

Volgende gegevens dienen minimaal geregistreerd te worden bij de monsterneming:

- identificatie van de monsternemer
- datum en uur van de monsterneming
- plaats en locatie van de bemonstering
- aanduiding /omschrijving/schets van de kraan die bemonsterd is (eventueel een foto), met vermelding van het type kraan (koud, warm water, mengkraan), tijdstip laatste shockdosering biocide⁸ (indien van toepassing)
- opzet en methode van de bemonstering van het water, inclusief de uitgevoerde handelingen m.b.t. verwijderen van koppelstukken, spoelen (incl. spoelvolumen) en/of reinigen/desinfecteren
- temperatuur van het water bij de monsterneming
- aantal recipiënten gevuld en de gegevens die noodzakelijk zijn voor het identificeren van de monsters zoals vermeld op het etiket
- resultaten van metingen ter plaatse
- afwijkingen t.o.v. de gevolgde methode en de reden van de afwijking
- eventuele opmerkingen en/of (omgevings-)omstandigheden die de monsterneming kunnen beïnvloeden.

8 RAPPORTERING

Van elke monsterneming dient een monsternemingsverslag conform WAC/VI/A/004 opgemaakt te worden. Dit verslag kan ook geïntegreerd worden met het analyseverslag.

Naast de nodige gegevens cfr. §5 van WAC/VI/A/004, moet het monsternemingsverslag moet minimum volgende gegevens bevatten:

- beschrijving plaats en locatie van de monsterneming, inclusief aanduiding lokaal en kraan
- documentatie (tijdstip) laatste shockdosering biocide⁸ (indien van toepassing)
- gebruikte methode voor monsterneming per parameter (ook indien combinatie van verschillende methoden gebruikt werden), incl. motivatie bij afwijkingen

9 TRANSPORT

De maximale bewaartermijnen van watermonsters conform WAC/I/010 zijn van toepassing vanaf het tijdstip (datum/uur) van de monsterneming. De monsters dienen dan ook tijdig aan het analyselaboratorium geleverd te worden zodat de houdbaarheid gerespecteerd kan worden. Eventueel moet de monsternemer afspraken maken m.b.t. de levering aan het analyselaboratorium, zodat het laboratorium zich kan houden aan deze houdbaarheidstermijn (bijv. spoedanalyse op voorhand plannen).

⁸ Enkel indien koel(toren)water of luchtvochtigheidsbehandelingen met waterinjectie bemonsterd worden m.b.t. analyse van *Legionella* spp.

Elke blootstelling aan licht en hitte moet te allen tijde vermeden worden. Gekoeld transport van monsters dient gegarandeerd te zijn door gebruik te maken van koelboxen met voldoende koelelementen of een koelinstallatie. Tijdens het transport mag de temperatuur van een monster⁹ zeker niet stijgen. Monsters met een hoge temperatuur worden hierbij fysisch gescheiden van koele monsters.

Het is zeker zinvol om via een logger het temperatuursverloop tijdens het transport te registreren.

10 REFERENTIES

- WAC/I/A/001, Ogenblikkelijke monsternamen (aan kraan) van water voor menselijke consumptie
- WAC/I/A/003, Ogenblikkelijk monsternamen (schepmonster) van water
- WAC/I/A/010, Conservering en behandeling van watermonsters
- WAC/I/A/011, Meting ter plaatse van temperatuur, pH, elektrische geleidbaarheid, opgeloste zuurstof, vrije chloor en gebonden chloor
- CMA/1/A.16, Monsterneming – Afvalstoffen en secundaire grondstoffen – Monsternemingstechnieken vloeistoffen
- NBN EN ISO 5667-1:2007, Water quality - Sampling Part 1: Guidance on the design of sampling programmes and sampling techniques.
- NBN EN ISO 5667-3:2018, Water quality- Sampling Part 3: Guidance on preservation and handling of samples.
- ISO 5667-7:1993, Water quality - Sampling - Part 7: Guidance on sampling of water and steam in boiler plants.
- NBN EN ISO 5667-10:2021, Water quality - sampling - Part 10: Guidance on sampling of waste water
- NBN EN ISO 5667-13:2011, Water quality - Sampling - Part 7: Guidance on sampling of sludges from sewage and water treatment plants.
- NBN EN ISO 19458:2006, Water quality – Sampling – General guide for sampling, transport, preservation and handling of samples for bacteriological analysis

⁹ Monsters met een temperatuur lager dan 8°C mogen tijdens transport tot maximaal 8°C opwarmen.

11 BIJLAGEN

BIJLAGE A: CONTROLE HETEROGENITEIT EN MONSTERNAME VAN NIET-HOMOGEEN WATER IN (OPSLAG)TANK(WAGEN)(S)

A.1 Controle heterogeniteit van (opslag)tank(wagen) en/of opslagrecipiënten

Voor een nadere visuele beoordeling van vloeistoffen wordt met een transparante monsterbuis (steekhevel, kogelklep- of vloeistoflagenmonsternemer) een vloeistofkolom genomen over de volledige vloeistofhoogte. Aan de hand van kleurverschillen en/of viscositeitverschillen en/of verschillen in aggregatietoestand (vast, vloeibaar) kan mogelijke **heterogeniteit of stratificatie (laagvorming)** van de vloeistof vastgesteld worden.

Een andere methode voor het vaststellen van heterogeniteit of laagvorming in de vloeistof, bestaat in het nemen van een oppervlakte- en bodemstaal, en beide monsters grondig te mengen. Nadat de recipiënt enkele minuten tot rust gekomen is, wordt de vloeistof geïnspecteerd. Kleurverschillen of verschillen in viscositeit wijzen meestal op heterogeniteit of laagvorming. Deze methode is toepasbaar bij de monsterneming van diepere tanks of opslageenheden, waar het nemen van monsters over de volledige vloeistofhoogte niet meer mogelijk is.

A.2 (Meervoudige) monsterneming van niet-homogeen water tijdens vullen of ledigen/leegpompen van een (opslag)tank(wagen)

1. De aftapleiding/klep/kraan wordt vooraf grondig gespoeld. Hiervoor laat men een hoeveelheid vloeistof gelijk aan drie keer de inhoud van de monsterrecipiënt in een zachte stroom uit de opslageenheid vloeien. De vloeistof wordt opgevangen in een afvalfles, en de kraan wordt gesloten. De spoelvloeistof wordt nadien op gepaste wijze afgevoerd.
2. Voor de eigenlijke monsterneming wordt de kraan opnieuw geopend, en wordt de vloeistofstroom zo geregeld dat de vloeistof gematigd en constant uit de tank loopt.
3. Een representatieve monsterneming kan bekomen worden door te bemonsteren tijdens het verpompen of ledigen van de volledige opslageenheid. Neem na 20% van de te verpompen hoeveelheid vloeistof een greep, en vang de vloeistof van elke greep afzonderlijk op in een monsterrecipiënt.
4. Herhaal punten 2 en 3 na 50% en 80 % van de vloeistof verpompt wordt.
5. De grepen/monsters na 20%, 50% en 80% verpompen, mogen ter plaatse samengevoegd worden tot een mengmonster op voorwaarde dat deze grepen/monsters allen eenzelfde volume vloeistof bevatten en steeds volledige grepen/monsters samengevoegd worden.
6. Indien meerdere laboratoriummonsters bereid moeten worden (reservemonster, contra-expertise), wordt dit uitgevoerd door meerdere monsterrecipiënten te vullen bij resp. 20%, 50% en 80% verpompen.

BIJLAGE B: VOORBEELD VAN EEN MONSTERNEMINGSFORMULIER

MONSTERNEMINGSFORMULIER

Monsternemer: _____

Tijdstip monsternamen: datum _____ uur: _____

Monsternummer: _____

Algemeen – omschrijving opdracht

Monsternameloctie: _____

Gebouw - lokaal: _____

Type water:

☐ afvalwater	☐ koel(toren)water	☐ spoelwater	☐ andere: _____
☐ proceswater	☐ grondwater (niet ikv drinkwater)	☐ oppervlaktewater (niet ikv drinkwater)	

Doel / reden monsterneming:

Staalnamepunt:

☐ kraan aan leidingen(circuit), stromend	☐ kraan aan leidingen(circuit), stilstaand	☐ kraan aan tank, tankwagen, opslagreceptiënt,... vulhoogte _____	☐ andere: _____

Parameter(s)(groepen):

☐ bacteriologische	☐ (fysico-)chemische	☐ beide	☐ andere: _____

Monsterneming

Monsternamemethode:

☐ ogenblikkelijke monsternamen (representatief)	☐ meervoudige monsternamen tijdens ledigen/vullen	☐ monsternamen vloeistoffen in tank cfr. CMA/1/A.16	☐ andere: _____
☐ ogenblikkelijke monsternamen (niet-representatief)	☐ koel(toren)water aan kraan m.b.t. Legionella spp.		

Handelingen:

☐ verwijderen opzetkoppelingen	☐ reinigen (buitenkant)	☐ reinigen (binnenkant)	☐ andere: _____
☐ homogeniseren	☐ circuleren begin _____ einde _____		

Spoelen:

☐ dood volume: _____ l + min. 1 minuut begin _____ einde _____	☐ kort	☐ niet gespoeld	☐ andere: _____ min./liter spoelen

Desinfecteren:☐ n.v.t.☐ thermisch
(flamberen)☐ Chemisch:

(specificeer desinfectans)

☐

andere: _____

Temperatuur bij de monstername: _____ °C

Afwijkingen: _____

Opmerkingen: _____

Monsterrecipiënten

Aantal gevulde recipiënten: _____

Recipiënten

☐ steriel☐ niet steriel☐ _____☐

Conservering (neutralisatie) bacteriologische parameters (enkel indien chloor aan water werd toegevoegd)

☐ 1 ml/l 1.8%
natriumthiosulf.☐ 2 ml/l 1.8%
natriumthiosulf.☐ _____☐

Opmerkingen:

Metingen ter plaatse

Parameter: pH : _____ Parameter: _____: _____

Parameter: _____: _____ Parameter: _____: _____

Parameter: _____: _____ Parameter: _____: _____

Parameter: _____: _____ Parameter: _____: _____

Transport en overdracht

Transport

☐ monstememer☐ opdrachtgever☐ extern: _____☐ andere: _____☐ gekoeld☐ niet-gekoeld☐ ijswater☐ andere: _____

Overdracht monsters aan: _____

Datum/uur: _____ Handtekening: _____

Opmerkingen: _____

Schets

Ogenblikkelijke monstername (schepmonster)
van water

INHOUD

1	Toepassingsgebied	4
2	Apparatuur, materiaal en oplossingen	4
2.1	<i>Monsternamename-apparatuur</i>	4
2.2	<i>Benodigdheden</i>	5
3	Keuze monsternamelocatie/-punt	5
3.1	<i>Locatie</i>	5
3.2	<i>Samenstelling</i>	6
3.3	<i>Specifieke instructies bij de keuze van de monsternamelocatie en -punt</i>	7
4	Uitvoering schepmonster	11
4.1	<i>Toegankelijkheid van de monsternamelocatie</i>	11
4.1.1	<i>Algemeen - veiligheid</i>	11
4.1.2	<i>Oppervlaktewater</i>	11
4.2	<i>Monsternamemethode</i>	13
4.2.1	<i>Directe monsternamename</i>	13
4.2.2	<i>Indirecte monsternamename</i>	13
4.2.3	<i>Monsternamename van oppervlaktelagen of -films</i>	14
4.3	<i>Uitvoering schepmonster</i>	14
4.3.1	<i>Vorbereiding</i>	14
4.3.2	<i>Monsternamename voor bacteriologische analyses</i>	15
4.3.3	<i>Monsternamename voor ecotoxicologische analyses</i>	16
4.3.4	<i>Monsternamename voor (fysico)chemische parameters</i>	16
4.3.5	<i>Monsternametemperatuur</i>	17
4.4	<i>Vullen van recipiënten</i>	17
4.4.1	<i>Direct: rechtstreeks schepmonster in monsterrecipiënt</i>	17
4.4.2	<i>Indirect: van verzamelemmer (enkel fysico-chemische parameters)</i>	18
4.5	<i>Vulvolgorde</i>	18
4.6	<i>Conservering</i>	19
4.7	<i>Filtraties ter plaatse</i>	19
4.8	<i>Aandachtspunten</i>	19
4.9	<i>Richtlijnen m.b.t. specifieke analyseparameters</i>	20
4.9.1	<i>PFAS</i>	20
5	Schepmonster van koel(toren)water m.b.t. de analyse van Legionella spp	21
5.1	<i>Vorbereiding monsternamename</i>	21
5.2	<i>Monsternamename van een koeltoren m.b.t. de analyse van Legionella spp.</i>	22
5.3	<i>Monsternamename van een luchtvochtigheidsbehandeling met water-injectie m.b.t. de analyse van Legionella spp.</i>	22
5.4	<i>Monsternametemperatuur en (facultatieve) pH-meting</i>	23
6	Metingen ter plaatse	23

7	Veldregistraties	23
8	Rapportering	24
9	Transport	24
10	Referenties	24
11	Bijlagen	25
	BIJLAGE A : Voorbeelden van een monsternemingsformulier (informatief)	26
	BIJLAGE B : voorbeelden van gespecialiseerde apparatuur voor monsterneming: cilindrisch monsternametoestel (CMT, informatief)	30
B.1	<i>Verticale CMT - vloeistoflagenmonsternemer</i>	30
B.1.1	Stangbediende vloeistoflagenmonsternemer	30
B.1.2	Kabelbediende vloeistoflagenmonsternemer	31
B.2	<i>Horizontale CMT - vloeistoflagenmonsternemer</i>	32

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de ogenblikkelijke monsterneming via een schepmonster van zwembaden, oppervlaktewater, afval- en tweedecircuitwater en de monsternamen van koelwater uit het vergaarbassin van koeltorens¹ en van luchtvochtigheidsbehandelingen met waterinjectie, met bijhorende specificaties betreffende conservering en transport.

Het betreft de monsterneming m.b.t. (fysico-)chemische, ecotoxicologische en microbiologische analyses in het laboratorium en m.b.t. metingen ter plaatse van pH, geleidbaarheid, temperatuur, vrije en gebonden chloor en/of opgeloste zuurstof. Voor de metingen ter plaatse wordt verwezen naar WAC/I/A/011.

Deze procedure is niet toepasbaar voor monsternamen m.b.t. (hydro)biologische parameters (pakketten W9).

Voor de tijds- en/of debietsgebonden monsternamen van afvalwater wordt verwezen naar WAC/I/A/004.

Voor de ogenblikkelijke monsternamen van afval- en tweedecircuitwater (koel-, proces, spoelwater,...) aan kranen wordt verwezen naar WAC/I/A/002.

2 APPARATUUR, MATERIAAL EN OPLOSSINGEN

De apparatuur en benodigdheden dienen zoveel mogelijk te bestaan uit materialen die inert zijn ten aanzien van de te analyseren component(en). Ze moeten goed onderhouden en schoon zijn zodat de representativiteit van de monsterneming niet nadelig wordt beïnvloed. De apparatuur en benodigdheden behoren regelmatig mechanisch en/of chemisch te worden gereinigd. Het ontstaan van bijvoorbeeld doffe of verkleurde vlekken kan een signaal zijn dat het hulpmiddel niet meer geschikt is voor monsterneming.

2.1 MONSTERNAME-APPARATUUR²

- 2.1.1. Scheppot of maatbeker met handvat³
- 2.1.2. (Telescopische) schepstok met houder en passende (maat)beker/recipient
- 2.1.3. Monsterkooi met passende recipient³ en touw (facultatief, in sommige monsternamensituaties alternatief voor 2.1.2 ; evenwaardige toestellen ook toegelaten), met mogelijkheid tot openen en afsluiten onder het wateroppervlak indien toegepast voor de monsternamen m.b.t. analyse van PFAS
- 2.1.4. Emmer met touw
- 2.1.5. (Hand- of peristaltische) pomp voor monsternamen van zeer ondiep water of op specifieke diepte, steriel of desinfecteerbaar indien toegepast voor bacteriologische parameters

² Andere, gelijkwaardige monsternamen-apparatuur dan hierna vermeld (bijv. pompapparatuur,...), kan toegepast worden op voorwaarde dat het werkingsprincipe en/of gebruik ervan overeenstemt met de doelstelling van de monsternamen. Het gebruik ervan wordt toegelaten na overleg met de opdrachtgever en/of toezichthoudende overheid, en mits documenteren en motiveren ervan op het monsternamenslag.

³ Voor elke monsternamen een nieuw/proper exemplaar voorzien.

2.2 BENODIGDHEDEN

- 2.2.1. Voldoende en aantoonbaar monsterrecipiënten (voorgeconserveerd, indien van toepassing) voor de te analyseren bacteriologische, (fysico-)chemische en/of ecotoxicologische parameters (indien van toepassing). De richtlijnen m.b.t. het minimale volume, de nodige conserveer- en of neutralisatiemiddelen en de te gebruiken recipiënten (bijv. plastic, glas,...) per parameter(groep) conform WAC/1/A/010 moet gerespecteerd worden

Elk recipiënt dient voorzien te zijn van een (voorgedrukte) label met vermelding van monstercoding, datum monsterneming, analyseparameter(s) of andere eenduidige identificatie of link naar de analyseparameter(s), conserveermiddel (indien noodzakelijk) en/of steriliteit met houdbaarheid ervan, facultatief aanduiding plaats/locatie van de monsterneming.

- 2.2.2. Verzamelemmer(s)³, met inhoud min. 1,5x het nodige volume voor het vullen van de monsterrecipiënten
- 2.2.3. Maatbeker(s) met gietskuit en handvat voor homogenisatie³
- 2.2.4. Breedhalsrecipiënt voor de monsterneming van oppervlaktelagen
- 2.2.5. (Lies)laarzen en/of waadpak (facultatief, indien van toepassing)
- 2.2.6. Handschoenen tot polslengte (directe monsterneming) en/of elleboog- of schouderlengte (facultatief, indien van toepassing)
- 2.2.7. Peilstok (1.5 m) voor bepaling monsternamediepte (of gelijkwaardige apparatuur)
- 2.2.8. Toestel waarmee ruimtelijke coördinaten kunnen vastgelegd en teruggevonden worden, bijv. GPS (verplicht bij monsterneming van oppervlaktewater; facultatief voor de andere situaties)
- 2.2.9. Monsternemingsformulier
- 2.2.10. Wegwerpspuiten³ en 0,45 µm spuitfilters³ (indien van toepassing, zie WAC/1/A/010)
- 2.2.11. Vochtige alcoholdoekjes, bijv. isopropanoldoekjes (van toepassing voor bacteriologische parameters)
- 2.2.12. Desinfectans: ethanol, hypochloriet, of ander gelijkwaardig (van toepassing voor bacteriologische parameters)
- 2.2.13. Desinfecterende handgel (van toepassing voor bacteriologische parameters)
- 2.2.14. Absorberend papier
- 2.2.15. Persoonlijke beschermingsmiddelen, afhankelijk van de omstandigheden van de monsterneming. Wegwerphandschoenen (eenmalig te gebruiken) en veiligheidsbril (bij het vullen van recipiënten met conserveermiddel) worden aanbevolen.

Bij monsterneming i.k.v. *Legionella* wordt ademhalingsbescherming FFP3 tegen aerosolen aanbevolen

- 2.2.16. Koelboxen met voldoende diepgevroren koelelementen of koelinstallatie om gekoeld transport van monsters te garanderen
- 2.2.17. Fototoestel (facultatief)

3 KEUZE MONSTERNAMELOCATIE/-PUNT

3.1 LOCATIE

De monsternamelocatie en het exacte monsternamepunt is een bepalende factor in het analyseresultaat bij het nemen van een schepmonster, maar de keuze ervan wordt ook ingegeven door de monsternamesituatie, zoals deze zich op het moment van de monsterneming voordoet, en het doel en/of (regelgevend) kader van de monsterneming. In deze procedure worden volgende monsternamesituaties behandeld:

a) **Oppervlaktewater** wordt gedefinieerd⁴ als:

- het stilstaand of stromend zoet of brak water dat permanent of op geregelde tijdstippen op natuurlijke of op kunstmatige wijze een deel van het aardoppervlak inneemt en dat deel uitmaakt van het waterhuishoudkundig systeem (bijv. bronnen, beken, vaarten, kanalen, rivieren)
- het stilstaand water dat permanent of op geregelde tijdstippen op natuurlijke wijze een deel van het aardoppervlak inneemt, dat niet in verbinding staat met een waterhuishoudkundig systeem, maar dat gevoed wordt door hemelwater

Qua monsternamen (schepmonsters) worden volgende situaties in deze procedure behandeld:

- i. Stromend oppervlaktewater
- ii. Stilstaand oppervlaktewater
- iii. Recreatiewaters en open zwemgelegenheden voor baden/zwemmen: vijvers, meren en waterlopen bedoeld waar volgende activiteiten plaatsvinden: zwemmen, duiken, windsurfen, waterskiën, met uitzondering van zeebadzones

b) **Zwembaden**: alle vaste zwembaden, overdekte en niet-overdekte circulatiebaden, plons-, therapie-, dompelbaden en whirlpools

c) **Afvalwater**

- i. Stromend afvalwater (in open kanalen en in gesloten opstelling): bij de lozing van bedrijfsafvalwater of bij monsternamen van influent en effluent bij afvalwaterzuiveringsinstallatie worden (debiets-of tijdsproportionele) 24-uurmonsters conform WAC/1/A/004 genomen op vaste plaatsen in de inlaat en in de afvoer van de behandelingsinstallatie. Een ogenblikkelijke monsternamen via schepmonsters is in deze gevallen in principe enkel toegelaten door de toezichthoudende overheid.
- ii. Alle andere situaties: afvalwater wordt meestal gekenmerkt door een heterogene verdeling van verontreinigingen. In eerste instantie wordt de monsternamenstrategie voor het nemen van een ogenblikkelijke monster conform WAC/1/A/002 (§3.1/Figuur 1) gevolgd. Als de bemonsterings situatie geen meervoudige of representatieve monsternamen via andere methoden (CMA/1/A.16) toelaat, wordt een ogenblikkelijk schepmonster volgens §Fout! Verwijzingsbron niet gevonden. genomen.

d) **Speciale bemonsterings situaties**:

- i. koeltorens, luchtvochtigheidsbehandeling met waterinjectie (bevochtigingsbakken)

3.2 SAMENSTELLING

Als algemene richtlijn wordt gesteld dat het schepmonster genomen wordt op een plaats waar een homogene samenstelling van het water kan verwacht worden. In specifieke gevallen (zwemwater) wordt een schepmonster algemeen genomen op een plaats met de minst gunstige kwaliteit. Specifieke instructies en informatie met betrekking tot de keuze van monsternamenlocatie en- punt in functie van de monsternamensituatie worden gegeven in **Tabel 1**⁵.

⁴ Titel II van het VLAREM, art.1, 1°

⁵ Tenzij anders opgelegd in de omgevingsvergunning

Hierbij wordt aanbevolen om rekening te houden met volgende aspecten:

- Houdt rekening met de toegankelijkheid en/of veiligheid bij uitvoering van de monstername: overweeg op welke plaatsen (brug, oever, doorwaden..) het monsternamepunt het best toegankelijk is, rekening houdende met de beperkingen van de locatie inzake monstername (zie §4).

Indien een opgegeven locatie niet geschikt is, wordt de reden gedocumenteerd op het veldformulier, en wordt een monsternamelocatie en -punt gekozen volgens de instructie in Tabel 1.

- Gebruik bij voorkeur bestaande monsternamelocaties om vergelijking van resultaten toe te laten, tenzij het bestaande monsternamepunt niet compatibel/geschikt is voor het beoogde doel van de monstername, veiligheid, etc. Lokaliseer de opgegeven locatie, en verifieer steeds of deze toepasbaar is in de huidige situatie.

3.3 SPECIFIEKE INSTRUCTIES BIJ DE KEUZE VAN DE MONSTERNAMELOCATIE EN -PUNT

Tabel 1 ²: instructies m.b.t. de keuze van de monsternamelocatie en- punt bij een ogenblikkelijke monstername (schepmonster)

Matrix	Monsternam e- situatie	Monsternamelocatie	Monsternamepunt	Opmerkingen
Oppervlakte -water ^{Fout!} Bladwijzer niet gedefinieerd., 6	Recreatiewater en open zwemgelegen- heden	Op een plaats met <u>de minst gunstige waterkwaliteit</u> : - de plaats waar het gemiddeld aantal baders het grootst is - de plaats waar de meeste zwemmers verwacht kunnen worden - de plaats waar volgens het zwemwaterprofiel het grootste risico van verontreiniging wordt verwacht	Volgende instructies gerespecteerd worden: - op een plaats waar het water minstens 1 m diep is (bij voorkeur 1 tot 1,5 m diepte) 30 cm onder het wateroppervlak	
	Stromend	Op een plaats waar een homogene samenstelling kan worden verwacht, bijv.: goede menging of turbulentie (overloop of toevloed meerdere stromen)		Vermijd plaatsen met instroom van contaminanten (lozingspunten), tenzij deze het doel zijn van de monstername
	Stilstaand	Op een plaats waar een homogene samenstelling kan worden verwacht, bijv.: - instroom van een (vers)waterbron - uitstroom van water (onttrekken)		- Risico op heterogene verdeling in horizontale en verticale richting door fotosynthese - veranderingen in watertemperatuur - invloed waterbodem - sedimentatie van gesuspendeerd materiaal

⁶Wanneer zwevende stoffen of parameters die zich hechten aan zwevende stoffen het onderwerp vormen in het betreffende onderzoek, wordt een cilindrisch monsternametoestel (BIJLAGE B) gebruikt. Bij het gebruik ervan dient de toegepaste methode gedocumenteerd en gemotiveerd te worden in het monsternamerverslag.

Matrix	Monstername - situatie	Monsternamelocatie	Monsternamepunt	Opmerkingen
				Tijdsgebonden (seizoens-, dag-) variaties kunnen optreden. Vermijd dit door de monstername op welbepaald tijdstip te plannen ⁷ .
Drinkwater	Zwem- en therapiebaden	Op een plaats met de minst gunstige waterkwaliteit: • tegenover én het verst verwijderd van de verswatertoevoer • aan de waterafvoer van het bad (bij oudere installaties) • Indien beschikbaar, wordt de plaats genomen die via de kleurtest als minst gunstig werd bepaald.	Volgende instructies moeten gerespecteerd worden: • 30 à 50 cm van de badrand en • net onder het oppervlak (tussen -10 en -30 cm) Baders moeten tijdens de monstername minstens 1 m verwijderd zijn van het monsternamepunt.	• In ondiepe baden aangepaste (compacte) apparatuur gebruiken om water onder het wateroppervlak te onttrekken (oppervlaktemonsters vermijden!) • Duid in- en uit- of overlaat bij aanduiding monsternamepunt op schets • Noteer (een schatting van) het aantal aanwezige baders in het betreffende bad tijdens de monstername • Gebruik geen glazen monstername- of meetapparatuur in de badzone.
Afvalwater	Stromend, bij lozing of afvalwater-zuivering	Op een plaats met de meeste turbulentie, of waar de samenstelling het meest representatief is: • waar een meetinrichting (meetgoot, meetschot,...) geïnstalleerd is • t.h.v. de uitstroom van afvalwater uit een afvoerbuis naar een oppervlaktewater of naar een lager gelegen put of riool. • op vaste plaatsen in de inlaat en in de afvoer van de	Volgende instructies moeten gerespecteerd worden: • ~~alle situaties~~ onder het wateroppervlak⁸ • voor meetinrichtingen: stroomafwaarts van de meetinrichting, op een afstand gelijk aan 3 x de breedte van de meetinrichting. Indien stroomafwaarts niet mogelijk is (in deze volgorde), en mits registratie van het afwijkende monsternamepunt: - stroomopwaarts	• monstername via (debiets-of tijdsproportionele) 24-uurs-verzamel-monsters conform WAC/I/A/004; een ogenblikkelijk (schep)monster is in principe enkel toegelaten door de toezicht- houdende overheid • Eventuele afzetting, bezinksel, sliblaag, etc. op de bodem van het afvoerkanaal of -buis wordt niet bemonsterd. • In ondiepe afvoerkanaalen aangepaste (compacte) apparatuur gebruiken om water onder het wateroppervlak te onttrekken

⁷ Tenzij de tijdsgebonden variaties het doel vormen van de monstername

⁸ bij voorkeur op 1/3 van het waterniveau

Matrix	Monstername - situatie	Monsternamelocatie	Monsternamepunt	Opmerkingen
		behandelingsinstallatie bij afvalwaterzuivering	- in de meetinrichting - aan een meetpunt	
Afvalwater	Andere dan lozing of afvalwater- zuivering	Op een plaats met de meeste turbulentie, of waar de samenstelling het meest representatief is. Volg bij de keuze van de monstername- locatie de <u>monsternamestrategie voor het nemen van een ogenblikkelijke monster conform WAC/1/A/002</u> (§3.1/Figuur 1) ² . Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.	• bezonken deeltjes worden niet mee bemonsterd	• Monstername aan kraan conform WAC/1/A/002 heeft voorkeur. • Geen representatieve monstername indien het stilstaand afvalwater niet gehomogeniseerd kan worden². Noteer de vermelding 'niet-representatief' op het monsternemingsverslag.
Koelwater	Koeltorens luchtvochtig- heidsbehand- e- ling met water- injectie	Keuze via Figuur 2 van WAC/1/A/002 •	Afhankelijk van de monsternamelocatie cfr. Figuur 2 WAC/1/A/002: zie §5 van WAC/1/A/002 (kraan) of §5 van deze methode (schepmonster)	
	luchtvochtig- heidsbehand- e- ling met water- injectie	vergaarbak	Afhankelijk van de waterhoogte in de vergaarbak (zie ook Figuur 2 WAC/1/A/002): - waterhoogte $\geq$ 20 cm: schepmonster net onder het oppervlak, tussen -10 en -30 cm - waterhoogte <20 cm: water oppompen op halve diepte	• Vermijd de mogelijk vervuilde bodem en wanden van de vergaarbak.

4 UITVOERING SCHEPMONSTER

4.1 TOEGANKELIJKHEID VAN DE MONSTERNAMELOCATIE

De keuze van de monstername locatie is, voornamelijk bij oppervlaktewater, ook zeer afhankelijk van de toegankelijkheid van de locatie, veiligheidsfactoren en de toepasbaarheid van bepaalde monstername technieken op de locatie.

4.1.1 ALGEMEEN - VEILIGHEID

Bij de keuze van de monsternamepunten wordt gelet op de toegankelijkheid onder alle weersomstandigheden. De eigen veiligheid is steeds prioritair, en voor het betreden van een locatie dienen de gevaren ingeschat te worden. Mogelijk kan toegankelijkheid, of gebrek aan veilige toegang tot een site, het bereik van een beoogde monsternamepunt hinderen. Bij potentieel onveilige of gevaarlijke situaties wordt - in overleg met het bedrijf - gebruik gemaakt van gepaste collectieve en/of persoonlijke beschermingsmiddelen (bijv. leuning, valharnas,...). Indien deze ontoereikend zijn, wordt een alternatieve locatie gekozen.

Probeer vooraf ook op te vragen of ter plaatse in te schatten of er andere specifieke risico's verbonden zijn aan een bepaalde monstername, met name op gebied van bijvoorbeeld aanwezigheid van toxische gassen (H_2S , CO , NH_3 , ...), explosieve mengsels, radioactieve straling, pathogene organismen. In dergelijke situatie is de aanwezigheid van een tweede persoon, uitgerust met GSM, noodzakelijk zodat deze desgevallend alarm kan geven en hulp kan bieden. In overleg met het bedrijf dient gebruik gemaakt te worden van gepaste collectieve en persoonlijke beschermingsmiddelen zoals specifieke beschermende kledij, ademhalingsbescherming, gebruik van bepaalde detectoren... .

Elke afwijking m.b.t. de monstername locatie en -punt omwille van veiligheids- en/of toegankelijkheidsredenen dient gemotiveerd te worden in het monsternameverslag.

4.1.2 OPPERVLAKTEWATER

Hieronder worden enkele van de meest voorkomende monstername locaties opgelijst. Er is geen expliciete voorkeursvolgorde voor de beschreven monstername locaties; deze zijn situatie-afhankelijk en worden in de eerste plaats bepaald door de instructies van het programma waarbinnen de monstername plaatsvindt (vaste monstername locatie, specifieke instructie qua diepte,...). De monsternemer overweegt ter plaatse de mogelijkheden met inachtnaam van de specifieke instructies inzake monstername locatie- en punt (Tabel 1). Bij deze overweging wordt steeds gestreefd naar een kwalitatief schepmonster (vermijden van externe invloeden, contaminatie, respecteren monstername plaats en -diepte).

4.1.2.1 MONSTERNAME VAN OP EEN BRUG

Kies een plaats op een brug zodat:

- er voldoende diepgang is in het water om de monstername-apparatuur onder te dompelen zonder de waterbodem op te woelen (bv. bij voorkeur in het midden van een brug). Kies een

kleinere monsternamereciënt of -apparaat of een andere monsternametechniek indien niet aan deze voorwaarde kan voldaan worden.

- er niet meer verontreinigingen of artefacten in de stroom aanwezig zijn ter hoogte van de brug t.o.v. van enkele meters verder (bijv. zwerfvuil, stenen, keien,...)
- er geen verontreinigend materiaal die aan of onder de brug hangen, kan loskomen en in de monstername-apparatuur terechtkomen.

Monstername via emmer en touw biedt weinig controle over de diepgang van het bemonsterde water. Bij gebruik van een emmer vanaf een brug wordt de reden gemotiveerd waarom andere locaties niet geschikt zijn voor monstername.

4.1.2.2 MONSTERNAME VAN OP DE OEVER/KANT

- Vermijd contaminatie van het monster door verstoring van de waterbodem of de oeverkant van het(de) water(loop). Een (telescopische) schepstok met beker is in dit opzicht beter geschikt dan een (schep)emmer met touw. Deze laatste mag enkel in overweging genomen worden indien geen andere locaties toegankelijk zijn voor monstername.
- Vermijd contaminatie van de wanden bij monstername van afvalwater in een meetgoot, kanaal of riool. Zorg ervoor dat de wanden proper zijn voor de monstername en dat slib, aanklevende deeltjes, etc. van de wanden verwijderd worden of niet in het schepmonster terecht kunnen komen.

4.1.2.3 MONSTERNAME BIJ HET DOORWADEN VAN WATER(LOOP) ('IN-STREAM')

- Betreed het oppervlaktewater alleen als dit op een veilige manier kan gebeuren en de nodige veiligheidsmaatregelen getroffen zijn. Zorg dat er altijd een tweede persoon in de buurt is in onveilige situaties. Indien deze wijze van monstername uitgesloten wordt omwille van veiligheid, wordt de reden gedocumenteerd op het monsternemingsformulier.
- Gebruik van een schepstok met telescopische verlengarm kan de diepte tot waar het oppervlaktewater moet betreden worden voor de monstername, beperken en is bijgevolg minder risicovol.
- Beperk de verstoring van de waterbodem of de oeverkant van het(de) water(loop) bij het doorwaden en bemonsteren. Betreedt de waterloop stroomafwaarts en waadt vervolgens stroomopwaarts door de waterloop; zo zal het monsternamepunt minder verstoord worden. Wacht even als het monsternamepunt bereikt is alvorens de monstername aan te vangen, zodat mogelijk opgedwarrelde waterbodemdeeltjes opnieuw kunnen bezinken. Een (telescopische) schepstok met beker/reciënt is in dit opzicht beter geschikt dan een (schep)emmer met touw.
- Verlaat het water voor het vullen van de verschillende monsterrecipiënten bij een indirecte monstername, en voer dit bij voorkeur uit op een veilige plaats aan de oever. Neem enkel een verzamelemmer en de monstername-apparatuur mee bij het doorwaden. Gebruik eventueel een vlot of boot als houvast en/of draaghulp.

4.1.2.4 MONSTERNAME VAN OP EEN BOOT (FACULTATIEF, IN FUNCTIE VAN EEN SPECIFIEKE OPDRACHT)

- Deze monstername mag enkel uitgevoerd worden als de monsternemer opgeleid is voor deze monstername en het gebruik van het vaartuig. Het vaartuig moet goed onderhouden zijn en geschikt zijn voor monstername.

- Vermijd contaminatie door uitlaatgassen van de motor; leg de motor stil bij de monstername, gebruik verankering (indien nodig) en wacht enkele minuten (ook bij gebruik van een roeiboot) alvorens de monstername aan te vangen.
- Contaminatie van een monster wordt vermeden door verstoring van neerslag op de waterbodem of doordat enig materiaal afkomstig van de boot zelf in het monster terechtkomt. Voor de bemonstering kan een schepstok (voorkeur) of een emmer worden gebruikt.

4.2 MONSTERNAMEMETHODE

Afhankelijk van het doel/kader van de monstername en de te analyseren parameter(s)groep(en) wordt een geschikte monsternamemethode gekozen. Deze methoden kunnen ook gecombineerd worden binnen één monstername.

4.2.1 DIRECTE MONSTERNAME

Monstername waarbij de monsterrecipiënt die aan het labo bezorgd wordt (d.i. het laboratoriummonster) rechtstreeks vanuit het te bemonsteren watervolume gevuld wordt, al dan niet gebruik makend van een (telescopische) schepstok of monsterkooi waarin de monsterrecipiënt rechtstreeks in bevestigd kan worden.	
<i>Wel toepassen:</i>	<i>Niet toepassen:</i>
- bij het nemen van monsters zowel <u>aan het oppervlak</u> als <u>net onder het oppervlak</u> (-30 cm). - bij voorkeur in gevallen waarbij verlies, of contaminatierisico van de te analyseren parameter(s), tijdens de monstername zeer hoog is. Vanuit deze optiek is directe monstername de aanbevolen methode voor het nemen van schepmonsters voor microbiologische analyse (zie §4.3.2) en voor het nemen van oppervlaktelagen (zie §4.2.3). - enkel wanneer de monstername op een veilige manier kan uitgevoerd worden (cfr. toegankelijkheid van het monsternamepunt, stromingsgevaar bij doorwaden, etc.).	- als de monsterrecipiënt waarmee bemonsterd wordt, conserveermiddelen bevat omdat verlies van het conserveermiddel en/of contaminatie van het bemonsterde water met conserveermiddel niet uitgesloten kan worden. - als er meerdere monsterrecipiënten moeten gevuld worden voor chemische parameters. Om de representativiteit van de inhoud van de verschillende monsterrecipiënten ten opzichte van het bemonsterde watervolume te garanderen, wordt de monstername in dit geval uitgevoerd door opeenvolgende schepmonsters (zie §4.2.2).

4.2.2 INDIRECTE MONSTERNAME

Monstername waarbij het schepmonster genomen wordt met (afzonderlijke) monstername-apparatuur (bijv. schepstok met beker, emmer, maat- of schepbeker,...) vanuit dewelke vervolgens de monsterrecipiënt(en) gevuld worden.

Vaak worden bij een indirecte monsterneming herhaaldelijk schepmonsters na elkaar genomen (weliswaar op dezelfde plaats en diepte) en worden deze verzameld in een verzamelrecipiënt (bijv. emmer).-Er worden dan zoveel schepmonsters genomen als 1.5 keer de benodigde hoeveelheid monster (het volume van alle monsterrecipiënten tesamen). De verzamelrecipiënt mag hierbij maximaal $\frac{3}{4}$ gevuld worden, zodat homogenisatie nog mogelijk is. Het verzamelmonster wordt

gehomogeniseerd (zie §4.4.2), waarna de monsterrecipiënten gevuld worden met behulp van deze maatbeker.	
<i>Wel toepassen:</i>	<i>Niet toepassen:</i>
- als het volume van de (maat)beker onvoldoende is om de monsterrecipiënt in één keer volledig te vullen - als er meerdere monsterrecipiënten gevuld moeten worden	- monstername van oppervlaktelagen (zie §4.2.3)

4.2.3 MONSTERNAME VAN OPPERVLAKTELAGEN OF -FILMS

Speciale vorm van een directe monstername, waarbij enkel de oppervlakte- of drijf laag bemonsterd wordt met behulp van een monsternamerecipiënt met brede instroomopening, zonder (monstername bij doorwaden) of met telescopische schepstok (monstername vanaf oever, boot, brug). De monsternamerecipiënt wordt stroomopwaarts (of tegen de windrichting in bij stilstaand water) gericht en horizontaal in het water gebracht zodat de hals van de monsternamerecipiënt half ondergedompeld is. Laat de recipiënt vollopen en haal op zodra deze gevuld is. Zorg ervoor dat de monsternamerecipiënt niet overvuld wordt, omdat de oppervlaktelaag dan (gedeeltelijk) kan overlopen. Het overgieten van de monsternamerecipiënt naar een andere monsterrecipiënt voor analyse (indirecte monstername) is niet toegelaten bij het bemonsteren van oppervlaktelagen, wegens risico op verlies van de oppervlaktelaag.	
<i>Wel toepassen:</i>	<i>Niet toepassen:</i>
- monstername voor kwalitatieve analyse van drijf- en oppervlaktelagen - in zeer specifieke gevallen, bijvoorbeeld voor de kwalitatieve analyse van minerale olie in oppervlaktewater met bestemming zwemwater, oliën/vetten in afvalwater	- gebruik van emmer met touw voor deze monstername (biedt geen controle over diepgang van de monstername) - kwantitatieve analyses van verontreinigingsparameters

4.3 UITVOERING SCHEPMONSTER

4.3.1 VOORBEREIDING

- 1) Leg alle benodigdheden, apparatuur en monsterrecipiënten op voorhand en binnen handbereik klaar.
- 2) Documenteer en beschrijf de gekozen monsternamelocatie en -punt conform de richtlijnen in §3, in functie van de monsternamesituatie en het doel van de monstername, eenduidig op het monsternemingsformulier. Gebruik hulpmiddelen om de locatie en/of diepte van het monsternamepunt te kunnen vaststellen, bijv. (peil)stok (andere, evenwaardige, hulpmiddelen zijn toegelaten)
Het vastleggen van het monsternamepunt wordt uitgevoerd in lengte- en breedterichting: noteer de GPS-coördinaten van de locatie (noodzakelijk voor oppervlaktewater) en/of duid tesamen met (een) referentiepunt(en) aan op een schets (alsook in- en uitlaat voor zwembaden) op het veldformulier en/of neem een foto van de monsternamelocatie en duidt hierop de locatie aan.
Noteer ook eventuele (omgevings-, weers-)omstandigheden die de monstername zou kunnen beïnvloeden (bijv. regen, sneeuw, opwaaiend stof, ijslaag,...).

Ijslagen worden uit veiligheidsoverwegingen niet betreden voor de monstername, maar worden vanaf de oever/kant/brug voorzichtig verwijderd. Indien hierdoor afgeweken moet worden van de normale instructies voor

het monsternamepunt wordt dit als afwijking genoteerd op het monsternemingsformulier.

- 3) Draag voor de monsterneming van fysicochemische parameters minimaal handschoenen (bij voorkeur eenmalig te gebruiken).

Voor de monsternaming voor bacteriologische parameters worden de handen eerst gewassen en/of ontsmet met een desinfecterende handgel of worden steriele handschoenen gebruikt.

Indien de bemonstering uitgevoerd wordt in het kader van een *Legionella* uitbraak, is het aangewezen om een ademhalingsbescherming FFP3 masker tegen aërosolen te dragen

- 4) Neem eerst, indien van toepassing (bijv. voor de kwalitatieve bepaling van minerale olie) of gevraagd (bijv. bij vaststelling van drijfslagen), een monster van de oppervlaktelaag conform §4.2.3.

Doe na deze monsternaming nieuwe handschoenen aan (bij voorkeur eenmalig te gebruiken) (zie punt 3).

- 5) Verwijder, indien van toepassing, eventuele resterende drijfslagen of andere verontreinigingen van het wateroppervlak ter hoogte van het monsternamingspunt door de schepstok of onderzijde van de monsternamingsrecipiënt enkele malen over het oppervlak van het water te bewegen.
- 6) Voer de monsternaming voor bacteriologische, ecotoxicologische en (fysico-)chemische parameters steeds afzonderlijk uit (d.w.z. afzonderlijk verzamelmonster), maar wel op dezelfde monsternamingslocatie en hetzelfde monsternamingspunt. Zorg evenwel voor dat beide monsternamingsnamen binnen een redelijke tijdsperiode (bijv. 10 min.) uitgevoerd worden.

Meestal wordt de monsternaming voor bacteriologische parameters eerst uitgevoerd, daar de gebruikte apparatuur of benodigdheden reeds voorgesteriliseerd zijn. Dezelfde apparatuur (niet meer steriel na gebruik) kan dan achtereenvolgens gebruikt worden voor de (fysico-)chemische parameters.

Indien bacteriologische parameters bepaald moeten worden, ga verder naar §4.3.2.

Indien ecotoxicologische parameters bepaald moeten worden ga verder naar §4.3.3.

Indien uitsluitend (fysico-)chemische parameters bepaald moeten worden ga verder naar §4.3.4. Spoel voor fysicochemische en ecotoxicologische monsternaming vooraf (evt. aan de oever) de apparatuur (indien indirect bemonsterd wordt) en touw of verlengkabel met het te bemonsteren water.

4.3.2 MONSTERNAMING VOOR BACTERIOLOGISCHE ANALYSES

- 7) Gebruik uitsluitend steriele (monster)recipiënten of apparatuur voor deze monsternaming (binnen- en buitenkant steriel). Open de verpakking van een individueel verpakte steriele recipiënt net de vóór monsternaming of desinfecteer elk steriele recipiënt - dat niet langs de buitenkant steriel is - heel nauwkeurig langs de buitenkant; tot aan de onderdompeling wordt de steriele recipiënt in de binnenkant van de verpakking gelaten. Niet-steriele apparatuur kan ook ter plaatse steriel gemaakt worden door te reinigen met vochtige alcoholdoekjes of desinfectans.

Omwillen van gezondheidsredenen wordt het aanbevolen om voorgeconserveerde steriele recipiënten met natriumthiosulfaat niet rechtstreeks in het te bemonsteren water te brengen.

- 8) Indien een schepstok (verlengarm) met houder of monsterkooi gebruikt wordt, wordt de onderzijde (houder en verlengarm of kooi) eveneens steriel gemaakt met alcoholdoekjes of met een desinfectans tot een hoogte van ongeveer 60 cm. Breng de recipiënt of beker aan in de houder van de schepstok/kooi. Gebruik eventueel de verpakking als een soort "handschoen" zodat de binnenkant van de verpakking en de recipiënt niet worden aangeraakt.

- 9) Verwijder de verpakking (indien van toepassing) ((open de recipiënt) en dompel de (houder of kooi met) recipiënt ondersteboven of gesloten onder tot op het gekozen monsternamepunt tot op de gestelde diepte (Tabel 1).
- 10) Open de fles/recipiënt of draai de recipiënt/scheppot. Vermijd hierbij verstoring van bodem of invloeden van (vervulde) bodem en wanden.
- 11) Hou de recipiënt schuin onder water zodat deze gevuld wordt tot aan de flessenhals (dus niet volledig vol). Sluit de monsterrecipiënt of draai om en haal op.
- 12) Giet het monster onmiddellijk over in een steriele monsterrecipiënt, indien geen directe monstername in een steriele monsterrecipiënt (binnenkant steriel) kon worden uitgevoerd(bijv. schepstok met beker).
- 13) Indien het bemonsterde water oxidanten bevat (chloor,...) dienen deze onmiddellijk na de monstername geneutraliseerd te worden met natriumthiosulfaat; voor de dosering van natriumthiosulfaat, raadpleeg §4.6.
- 14) Indien geen (fysico-)chemische en/of ecotoxicologische parameters bepaald moeten worden, ga verder naar 25).

4.3.3 MONSTERNAME VOOR ECOTOXICOLOGISCHE ANALYSES

- 15) Gebruik, indien mogelijk, dezelfde apparatuur, (maat)beker en schepstok, emmer of kooi als deze voor de monstername van de overige parameters.
Gebruik in ieder geval propere, gespoelde recipiënten en apparatuur voor deze monstername.
- 16) Breng de (maat)beker of houder met beker/recipiënt op het monsternamepunt in het water tot op de gestelde diepte (Tabel 1) en vul. Vermijd verstoring van bodem of invloeden van (vervulde) bodem en wanden.
- 17) Giet de inhoud over in het (met ~~afval~~ te bemonsteren water gespoelde, proper) monsterrecipiënt. Herhaal deze laatste stap (op hetzelfde monsternamepunt en diepte) totdat voldoende water bemonsterd werd (afhankelijk van het aantal en de aard van de uit te voeren ecotoxiciteitstesten). Let erop dat het monsterrecipiënt volledig gevuld is, zodat er geen bovenliggende luchtlaag in het recipiënt aanwezig is.
- 18) Bewaar de monsterrecipiënten koel.
- 19) Indien geen (fysico-)chemische parameters bepaald moeten worden, ga verder naar 25).

4.3.4 MONSTERNAME VOOR (FYSICO)CHEMISCHE PARAMETERS

- 20) Gebruik, indien mogelijk, dezelfde apparatuur, (maat)beker en schepstok, emmer of kooi voor de monstername als voor bacteriologische parameters.
- 21) Breng de (maat)beker of houder met beker/recipiënt op het monsternamepunt in het water tot op de gestelde diepte (Tabel 1): ondersteboven indien schepstok met beker wordt gebruikt; gesloten als een fles of monsterrecipiënt wordt gebruikt.
- 22) Open de fles/recipiënt of draai de maatbeker (schepstok) zodat deze gevuld wordt. Vermijd hierbij verstoring van bodem of invloeden van (vervulde) bodem en wanden.
- 23) Giet de inhoud over in een verzamelemmer¹⁰. Herhaal de laatste stap (op hetzelfde monsternamepunt en diepte) totdat voldoende water bemonsterd werd (ongeveer 1.5 x het volume van alle te vullen monsterrecipiënten voor deze monstername). Let erop dat de verzamelemmer niet volledig gevuld is, zodat homogenisatie met een maatbeker nog mogelijk is.

¹⁰ Tenzij de inhoud van de (maat)beker of emmer reeds voldoende is om alle monsterrecipiënten te vullen of voor enkel veldmetingen.

- 24) Voor homogeniseren van het bemonsterde water en het vullen van de verschillende monsterrecipiënten wordt verwezen naar §4.4.

4.3.5 MONSTERNAMETEMPERATUUR

- 25) Vul aansluitend een bijkomende beker of recipiënt voor het meten van de temperatuur bij de monsterneming met behulp van een digitale thermometer. Noteer de temperatuur bij de monsternaming onmiddellijk op het monsternemingsformulier; het is voornamelijk belangrijk de temperatuur zo snel mogelijk na de monsternaming gemeten en afgelezen wordt voordat deze beïnvloedt kan worden door de omgevingstemperatuur.

4.4 VULLEN VAN RECIPIËNTEN

Meestal dienen meer dan één monsterrecipiënt aan het labo bezorgd te worden, afhankelijk van het aantal te analyseren parameters of parametergroepen, waaraan al dan niet een conserveermiddel is toegevoegd. Monsterrecipiënten die een conserveermiddel bevatten mogen NIET rechtstreeks in het water gevuld worden bij het nemen van een schepmonster omwille van het basisprincipe dat er geen chemicaliën mogen toegevoegd worden aan het te bemonsteren water. Dit basisprincipe is geldig voor fysico-chemische parameters, en wordt tevens aanbevolen voor ecotoxicologische en bacteriologische parameters. Het vullen van de verschillende recipiënten wordt als volgt uitgevoerd:

- voor bacteriologische parameters wordt bij voorkeur rechtstreeks in een steriele monsterrecipiënt bemonsterd. Indien het water oxidanten bevat, worden deze onmiddellijk na monsternaming geneutraliseerd met natriumthiosulfaat (zie §4.6)
- voor fysico-chemische parameters wordt een indirecte monsternaming (m.u.v. drijfslagen) uitgevoerd door verschillende delen water (grepen) te verzamelen in een verzamelemmer (zie §4.2.2). Van hieruit worden vervolgens de verschillende monsterrecipiënten voor fysico-chemische parameter gevuld conform de richtlijnen in §4.4.2; volg hierbij de instructies m.b.t. de vulvolgorde (§4.5), conservering (§4.6) en eventuele filtraties ter plaatse bij de analyse van opgeloste bestanddelen (§4.7).
Het is niet toegelaten om monsterrecipiënten voor bacteriologische op deze wijze te vullen wegens risico op contaminatie vanuit de verzamelemmer, maatbeker of door de langere blootstelling aan de omgeving(slucht).
- Voor ecotoxicologische parameters wordt een directe of indirecte monsternaming uitgevoerd door (verschillende delen) water rechtstreeks in het monsterrecipiënt te verzamelen (§4.3.3).

Eventuele richtlijnen qua vulling (bijv. geen vrije ruimte) in WAC/I/A/010 moeten gerespecteerd worden.

Vermijd overvullen of overlopen van voorgeconserveerde monsterrecipiënten om verlies van het conserveermiddel te voorkomen. In dit geval moet steeds een nieuwe monsterrecipiënt voor de parameter(s) in kwestie gevuld worden. Zorg dus steeds voor voldoende extra monsterrecipiënten van de te analyseren parameters.

4.4.1 DIRECT: RECHTSTREEKS SCHEPMONSTER IN MONSTERRECIPIËNT

- Deze werkwijze wordt toegepast indien een directe monsternaming (voor bijv. drijfslagen, ecotoxicologische of bacteriologische parameters) wordt uitgevoerd.

- De monsterrecipiënt wordt na de monstername onmiddellijk afgesloten. De buitenzijde wordt droog geveegd alvorens transport of monsteroverdracht aan het laboratorium.

4.4.2 INDIRECT: VAN VERZAMELEMMER (ENKEL FYSICO-CHEMISCHE PARAMETERS)

- Doe propere (nieuwe) wegwerphandschoenen aan bij het homogeniseren en vullen van monsterrecipiënten.
- Het homogeniseren en vullen wordt uitgevoerd met behulp van een propere (maat)beker met uitgietsluit en handvat vanuit de verzamelemmer. Homogeniseer het verzamelmonster door zachte horizontale en verticale zwenkende bewegingen met een maatbeker in de emmer uit te voeren, zonder hierbij lucht in het water te brengen.
Het is niet toegelaten om de maatbeker te vullen en opnieuw uit te gieten in de verzamelemmer omdat op deze manier te veel lucht in het verzamelmonster wordt gebracht.
- Vul één voor één de monsterrecipiënten vanuit de verzamelemmer met behulp van deze maatbeker, en waarbij de volgorde gerespecteerd wordt (zie §4.5). Vanuit elke gevulde (maat)beker wordt slechts één monsterrecipiënt gevuld.
Gooi het restant in maatbeker telkens weg na het vullen van een recipiënt.
Indien identieke monsterrecipiënten (zelfde conservering) dienen gevuld te worden, open dan deze recipiënten tegelijk en vul afwisselend kleine hoeveelheden tot de recipiënten gevuld zijn. Elke keer dat opnieuw geschapt wordt met de maatbeker, moet de hele inhoud van de verzamelemmer weer gehomogeniseerd worden.
- De maatbeker mag bij het vullen de hals van de monsterrecipiënt niet raken (risico op contaminatie van verzamelmonster met maatbeker vanuit het conserveermiddel dat mogelijk aan de hals kleeft).
- Hou de te vullen monsterrecipiënt nooit boven de verzamelemmer zodat bij eventueel overlopen van monsterrecipiënten met conserveermiddel, kan vermeden worden dat het verzamelmonster gecontamineerd raakt door conserveermiddel

4.5 VULVOLGORDE

Bij het vullen van de monsterrecipiënten dienen onderstaande instructies gerespecteerd te worden, **met uitzondering van ecotoxicologische, bacteriologische parameters en/of voor parameters met een monstername aan het oppervlak** (cfr. drijfslagen) genomen werden. **Hiervoor is een afzonderlijke monstername (zie §4.3.1 4.3.2, 4.3.3 en §4.4.1) voorzien voorafgaand aan de monstername voor de overige (fysico)chemische parameters.**

1. Recipiënt(en) bestemd voor vluchtige organische solventen
2. Recipiënten waarbij zuurstofinbreng de bepaling kan storen (vb BZV)
3. Recipiënt(en) zonder conserveringsreagentia

Voor pH en geleidbaarheid wordt een monsterrecipiënt gevuld voor meting in het labo, ingeval de kalibratie en/of controle van de veldmeter(s) na de monsterneming niet voldoet aan de geldende kwaliteitseisen en een meting door het laboratorium nodig is. Het vullen van deze recipiënt is overbodig indien bij elke monsterneming een controlemeting wordt gedaan.

4. Recipiënt(en) met conserveringsreagentia: ook hier dient rekening gehouden te worden met een volgorde van vullen om contaminatie van een volgend monster via de conserveringsreagentia te vermijden.

Voorbeeld: een recipiënt bestemd voor nitraatbepaling mag niet volgen op het vullen van een recipiënt met salpeterzuur. Een recipiënt metaalanalyse mag niet gevuld worden na het vullen van een recipiënt met kaliumdichroomaat wegens risico op Cr-contaminatie.

5. Recipiënten voor metingen ter plaatse:

- a) geleidbaarheid: min. 50 ml water in een meetrecipiënt (indien ter plaatse gemeten)
- b) opgeloste zuurstof: min. 50 ml water in een meetrecipiënt (indien ter plaatse gemeten)
- c) vrije en gebonden chloor
- d) pH en pH-temperatuur min. 50 ml water in een meetrecipiënt (indien ter plaatse gemeten)

Er worden bij voorkeur afzonderlijke meetrecipiënten voor geleidbaarheid en pH gevuld om contaminatie via de elektrode te vermijden (externe contaminatie of via lek van de pH-elektrode). Maar indien gewenst kan het recipiënt waarin geleidbaarheid gemeten is, daarna gebruikt worden voor pH meting.

Alle handelingen bij het vullen moeten zo snel mogelijk na elkaar volgen. Het is dan ook zeker zinvol en tijdsbesparend om de vulvolgorde van monsterrecipiënten kenbaar te maken op de recipiënten (via nummering of codering). Hierbij worden enkel door het laboratorium aangeleverde monsterrecipiënten gebruikt, die proper gestockeerd en lekdicht afgesloten zijn.

Afwijkingen m.b.t. vulvolgorde zijn enkel toegelaten mits duidelijke motivatie ervan in het monsternemingsverslag.

4.6 CONSERVERING

- De monsters moeten, per analyseparameter of -groep, de nodige bewaar- of conserveermiddelen voor de (fysico-) chemische parameters bevatten conform WAC/I/A/010.
- Voor bacteriologische parameters worden steeds steriele monsterrecipiënten gebruikt. Indien het te bemonsteren water oxidanten bevat (chloor, broom, ozon,...), moeten de werking ervan bovendien geneutraliseerd worden met een natriumthiosulfaatpentahydraat-oplossing cfr. WAC/1/A/010. Dit kan door een nadosering onmiddellijk na de monstername: ofwel door op aseptische wijze individuele porties natriumthiosulfaat te doseren aan het watermonster van de gevulde steriele monsterrecipiënt, ofwel door overgieten van het watermonster in een voorgedoseerde steriele monsterrecipiënt met natriumthiosulfaat.
Het ter plaatse nadoseren van natriumthiosulfaat wordt aanbevolen ten opzichte van de directe monstername met recipiënten waarbij natriumthiosulfaat voorgedoseerd is. Omwille van gezondheidsredenen wordt het aanbevolen om natriumthiosulfaat niet rechtstreeks in het te bemonsteren water te brengen.
- De conservering gebeurt steeds ter plaatse. Maak voor fysico-chemische parameters bij voorkeur gebruik van voorgeconserveerde monsterrecipiënten. Het doseren van conserveermiddelen op het veld is omslachtig, moet vaak in moeilijke (weers)omstandigheden uitgevoerd worden en is bijgevolg vaak minder nauwkeurig.
- De aard en de houdbaarheid van de conserveermiddelen en/of steriliteit moet vermeld worden op de monsterrecipiënt en moet gerespecteerd worden.

4.7 FILTRATIES TER PLAATSE

Voor bepaalde (opgeloste) parameters in oppervlaktewater en afvalwater dienen watermonsters ter plaatse gefiltreerd te worden met een 0,45 µm spuitfilter. De filtratie wordt vlak voor het vullen van de monsterrecipiënt voor de opgeloste parameter in kwestie, uitgevoerd rekening houdend met de vulvolgorde vermeld in §4.5. Het filtraat wordt onmiddellijk overgebracht in de monsterrecipiënt in kwestie.

4.8 AANDACHTSPUNTEN

Volgende voorzorgen worden in achtgenomen tijdens het nemen van een schepmonster:

- Alle gebruikte monstername-apparatuur en monsterrecipiënten moeten steriel zijn voor microbiologische monstername, aan de binnenkant en aan de buitenkant indien deze in contact komen met het te bemonsteren water, en moeten steriel worden toegepast. De apparatuur en recipiënten worden gesteriliseerd of steriel aangekocht; vóór sterilisatie worden deze individueel verpakt. Eventueel wordt de buitenkant van moeilijk te steriliseren apparatuur langs de buitenzijde steriel gemaakt met een desinfectiemiddel net vóór de monstername.
- Vooraleer het monster genomen wordt, is het aangewezen om de monstername-apparatuur (met uitzondering van gesteriliseerde apparatuur) voor te spoelen met het te bemonsteren water. Vergeet hierbij niet het deel van het touw of verlengstuk/-stok van de apparatuur.
- De temperatuur van het water kan ook rechtstreeks in het water of bad of emmer gevuld met monster gemeten worden; het is voornamelijk belangrijk dat de temperatuur zo snel mogelijk wordt gemeten.

Volgende voorzorgen worden in achtgenomen bij het vullen van de recipiënten:

- Voor chemische, ecotoxicologische en bacteriologische parameters: leg de flessendop van een geopende monsterrecipiënt met de opening naar boven op een propere ondergrond (bijv. op adsorberend papier), zodat contaminatie vanuit de ondergrond wordt vermeden.
- Sluit elk monsterrecipiënt goed af (handgespannen en lekdicht) en controleer dit desgewenst.
- Maak de buitenkant van de monsterrecipiënten proper na het vullen.
- Zorg dat de gevulde recipiënten op de monsternamelocatie afgeschermd worden van direct zonlicht (zie verder §9).
- Breng bij metingen ter plaatse nooit een meetsonde aan in een recipiënt die bestemd is voor andere analyses.

4.9 RICHTLIJNEN M.B.T. SPECIFIEKE ANALYSEPARAMETERS

4.9.1 PFAS

Wanneer er monsternames gebeuren in het kader van PFAS-analyses, moet rekening worden gehouden met volgende richtlijnen:

- In de mate van het mogelijke moet nagegaan worden (bij de leverancier / aan de hand van analyses) of het materiaal gebruikt bij monsternames voor analyse op PFAS, PFAS kan bevatten. Een overzicht van mogelijke PFAS-houdende elementen wordt in de checklist, opgenomen in de OVAM-document 'richtlijn PFAS-onderzoek'(www.ovam.be), weergegeven.
- Bij ogenblikkelijke monsternames mag enkel monstername-apparatuur worden gebruikt waarvan aangetoond is dat ze geen PFAS boven de LOQ uitlogen in het waterstaal.
- Elk rechtstreeks contact met het monster moet worden vermeden, dit houdt ook rechtstreeks contact van het monster met de handschoenen in. Het is bijgevolg noodzakelijk om een gereinigd hulpmiddel te gebruiken om het staal te nemen.
- Reinigen van materiaal:
 - o enkel met water van drinkwaterkwaliteit;
 - o bij de toepassing van reinigingsmiddel mag enkel gebruik gemaakt worden van PFAS-vrije detergents en moet grondig worden nagespoeld. Het gebruik van Deconex is niet toegestaan;
- Waterstalen voor de analyse van PFAS worden niet gefiltreerd.
- Het gebruik van koelelementen wordt toegestaan onder de volgende voorwaarden:
 - o de koelelementen vertonen geen lekken;

- o alleen harde koelelementen worden toegestaan, de flexibele koelelementen niet omdat ze een grotere kans op scheuren hebben.
- Er wordt geen beperking opgelegd in te dragen regen-, veiligheids- en andere kledij indien aan volgende voorwaarden wordt voldaan:
 - o rechtstreeks contact met het staal moet worden vermeden;
 - o afloop van hemelwater via de kledij in het staal moet worden vermeden;
 - o kledij aangewend bij staalname mag niet worden gewassen met wasverzachter.
- Richtlijnen met betrekking tot conservering en recipiënten zijn opgenomen in de procedure WAC/1/A/010.

5 SCHEPMONSTER VAN KOEL(TOREN)WATER M.B.T. DE ANALYSE VAN LEGIONELLA SPP.

5.1 VOORBEREIDING MONSTERNAME

- 1) Raadpleeg het stroomschema (Figuur 2) van WAC/1/A/002 om de meest aangewezen bemonsteringssituatie en -locatie m.b.t. de opvolging van *Legionella* spp. te bepalen. De voorkeur wordt gegeven aan de monstername aan een kraan na de warmtewisselaar en wordt uitgevoerd cfr. WAC/1/A/002.
Indien het nemen van een schepmonster in de gegeven situatie de meest aangewezen methode is, ga verder met 2) van deze paragraaf.
- 2) Documenteer en beschrijf het bemonsterde water, de bemonsteringssituatie (bassin, vergaarbak,...) en het gekozen monsternamepunt in het bassin van de koeltoren of in de vergaarbak van de luchtvochtigheidsbehandeling met waterinjectie (adres/lokaal of situering in productie bijv. foto, schets, GPS-coördinaten, ...) eenduidig op het monsternemingsformulier (zie §7).
- 3) Informeer bij de productieverantwoordelijke wanneer laatst gedesinfecteerd werd en rapporteer deze informatie. **De monstername is pas zinvol als deze min. 48h na de shockdosering van biocide uitgevoerd wordt¹¹.**
- 4) Voorzie een steriele monsterrecipiënt voor de analyse van *Legionella* sp. cfr. WAC/1/A/010.
 Voor de analyse van *Legionella* spp. worden steeds steriele monsterrecipiënten gebruikt met 0,2 ml 1,8% natriumthiosulfaat pentahydraat oplossing voor elke 100 ml volume van de monsterrecipiënt.
- 5) Draag minimaal wegwerphandschoenen (eenmalig te gebruiken). Indien de bemonstering uitgevoerd wordt in het kader van een *Legionella* uitbraak of in besloten ruimtes met aërosolen, is het aangewezen om een ademhalingsbescherming FFP3 masker tegen aërosolen te dragen. Vermijd om in besloten ruimtes met aërosolen te treden om de monstername uit te voeren (bijv. monstername van het vallende water), maar maak – indien mogelijk – gebruik van een verlengstok of -arm waarin de monsterrecipiënt geplaatst kan worden.
- 6) Gebruik uitsluitend steriele (monster)recipiënten of apparatuur voor deze monstername. Niet-steriele apparatuur kan ter plaatse steriel gemaakt worden door te reinigen met vochtige alcoholdoekjes of desinfectans.
- 7) Indien het de monstername van een koeltoren betreft: ga verder naar §5.2.
Indien het de monstername van een luchtvochtigheidsbehandeling met waterinjectie betreft: ga verder naar §5.3.

¹¹ Indien enkel een continue dosering van biocide wordt uitgevoerd, is deze termijn niet van toepassing.

5.2 MONSTERNAME VAN EEN KOELTOREN M.B.T. DE ANALYSE VAN *LEGIONELLA* SPP.

- 8) Indien een schepstok (verlengarm) met houder of monsterkooi gebruikt wordt, wordt de onderzijde (houder en verlengarm of kooi) eveneens steriel gemaakt met alcoholdoekjes of met een desinfectans tot een hoogte van ongeveer 60 cm. Breng de recipiënt of beker aan in de houder van de schepstok/kooi.
- 9) Dompel de (houder of kooi met) recipiënt ondersteboven, of gesloten, onder op het gekozen monsternamepunt. Het monsternamepunt moet minstens 1 m van de kant/zijwand liggen, en bij de monstername wordt een diepte tussen -10 en -30 cm onder het wateroppervlak aangehouden.
- 10) Open de fles/recipiënt of draai de recipiënt/scheppot. Vermijd hierbij verstoring van bodem of invloeden van (vervuilde) bodem en wanden.
- 11) Hou de recipiënt schuin onder water zodat deze gevuld wordt tot aan de flessenhals (dus niet volledig vol). Sluit de monsterrecipiënt of draai om en haal op.
- 12) Giet het monster onmiddellijk over in een steriele monsterrecipiënt, indien geen directe monstername in een steriele monsterrecipiënt (binnenkant steriel) kon worden uitgevoerd (bijv. schepstok met beker).

Indien het bemonsterde water oxidanten bevat (chloor,...) dienen deze onmiddellijk na de monstername geneutraliseerd te worden met natriumthiosulfaat cfr. WAC/1/A/010; voor de dosering van natriumthiosulfaat, raadpleeg §4.6.

- 13) Ga verder naar 15).

5.3 MONSTERNAME VAN EEN LUCHTVOCHTIGHEIDSBEHANDELING MET WATER-INJECTIE M.B.T. DE ANALYSE VAN *LEGIONELLA* SPP.

- 14) Bemonster de vergaarbak van de luchtvochtigheidsinstallatie:
 - Indien de waterhoogte in de vergaarbak meer dan 20 cm bedraagt, wordt een schepmonster genomen zoals beschreven in §5.2 (punt 8) t.em. 12)). Voor waterhoogtes net boven 20 cm, moet hier mogelijk een aangepaste kleinere scheppot of -beker gebruikt worden zodat de bodem niet geraakt of verstoord kan worden door de monstername.
 - Indien de waterhoogte in de vergaarbak minder dan 20 cm bedraagt, moet de monstername uitgevoerd worden met een hand- of peristaltische pomp (2.1.5), waarbij de aanzuigdarm in het midden van de totale waterhoogte wordt gepositioneerd:
 - i. Zorg ervoor dat het onderste deel van de buitenzijde van de aanzuigdarm, alsook de binnenzijde van de aanzuigdarm en/of alle delen van de pomp waarmee het bemonsterde water in contact komt, steriel zijn of gedesinfecteerd worden voor de monstername.
 - ii. Positioneer de aanzuigdarm van de pomp in het midden van de totale waterhoogte in de vergaarbak. Vermijd hierbij de (vervuilde) bodem en wanden van de vergaarbak.
 - iii. Start de aanzuiging van de pomp en laat het water in een steriele monsterrecipiënt lopen. Indien het bemonsterde water oxidanten bevat (chloor,...) dient deze monsterrecipiënt voor- of nageconserveerd te worden met natriumthiosulfaat cfr. WAC/1/A/010.

Ga verder naar 15).

5.4 MONSTERNAMETEMPERATUUR EN (FACULTATIEVE) PH-METING

- 15) Vul aansluitend een bijkomende beker of recipiënt voor het meten van de temperatuur bij de monsterneming met behulp van een digitale thermometer.
Noteer de temperatuur bij de monstername onmiddellijk op het monsternemingsformulier; het is voornamelijk belangrijk dat de temperatuur zo snel mogelijk na de monstername gemeten en afgelezen wordt voordat deze beïnvloedt kan worden door de omgevingstemperatuur.
- 16) Het meten van de pH van het koel(toren)water wordt aanbevolen (zie WAC/1/A002 §3 **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.** .
Neem hiervoor aansluitend een nieuw schepmonster en vul een meetrecipiënt voor pH (of meet rechtstreeks in het te bemonsteren water of schepmonster). Noteer de pH
- 17) Vervolledig de nodige veldregistraties cfr. §7.

6 METINGEN TER PLAATSE

Voor de metingen ter plaatse wordt verwezen naar WAC/I/A/011.

7 VELDREGISTRATIES

Bij elke monstername van water worden ter plaatse veldregistraties gemaakt. Dit kan bijvoorbeeld door gebruik te maken van een 'monsternemingsformulier'.

Een voorbeeld van monsternemingsformulier is toegevoegd in Bijlage 1.

Volgende gegevens dienen minimaal geregistreerd te worden bij de monsterneming:

- identificatie van de monsternemer
- datum en uur van de monstername
- identificatie/omschrijving/schets van de monsternamelocatie (naam zwembad/vijver/stroom, plaatsnaam,...) en monsternamepunt (eventueel foto). GPS-coördinaten zijn verplicht bij de monstername van oppervlaktewater.
- (weers-)omstandigheden waarbij bemonsterd werd en/of vlak voor de monstername (bijv. regen, bewolkt, zon,...), tijdstip laatste shockdosering van biocide¹² (indien van toepassing)
- methode van de bemonstering, inclusief beschrijving van gebruikte apparatuur en uitgevoerde handelingen
- temperatuur van het water bij de monsterneming
- resultaten van metingen ter plaatse (indien van toepassing)
- aantal recipiënten en de gegevens die noodzakelijk zijn voor het identificeren van de monsters zoals vermeld op het etiket
- afwijkingen t.o.v. deze procedure en de reden van de afwijkingen
- eventuele opmerkingen en/of (omgevings-)omstandigheden die de monsterneming kunnen beïnvloeden (bijv. aanwezigheid van zwemmers/baders bij de monstername van zwembaden of recreatiewaters).

¹² Enkel indien koel(toren)water of luchtvochtigheidsbehandeling met waterinjectie bemonsterd worden m.b.t. analyse van *Legionella* sp.

8 RAPPORTERING

Van elke monsterneming dient een monsternameverslag conform WAC/VI/A/004 opgemaakt te worden.

Naast de nodige gegevens cfr. §5 van WAC/VI/A/004, moet het monsternemingsverslag minimum volgende gegevens bevatten:

- identificatie/omschrijving/schets monsternamepunt (eventueel foto)
- (weers-)omstandigheden waarbij bemonsterd werd en/of vlak voor de monstername (bijv. regen, bewolkt, zon,...) [niet voor indoor monsternames], documentatie (tijdstip) laatste shockdosering¹² (indien van toepassing)
- temperatuur van het water bij de monsterneming
- eventuele opmerkingen en/of (omgevings-)omstandigheden die de monsterneming kunnen beïnvloeden (bijv. aanwezigheid van zwemmers/baders bij de monstername van zwembaden of recreatiewaters, aanwezigheid en tijdstip van toevoegen van biociden bij koeltorenwater), incl. motivatie bij afwijken.

9 TRANSPORT

De maximale bewaartermijnen van watermonsters conform WAC/I/010 zijn van toepassing vanaf het tijdstip (datum/uur) van de monsterneming. De monsters dienen dan ook tijdig aan het analyselaboratorium geleverd te worden zodat de houdbaarheid gerespecteerd kan worden.

Elke blootstelling aan licht en hitte moet te allen tijde vermeden worden. Gekoeld transport van monsters dient gegarandeerd te zijn door gebruik te maken van koelboxen met voldoende koelelementen of een koelinstallatie. Tijdens het transport mag de temperatuur van een monster¹³ zeker niet stijgen. Monsters met een hoge temperatuur worden hierbij fysisch gescheiden van koele monsters.

Het is zeker zinvol om via een logger het temperatuursverloop tijdens het transport te registreren.

10 REFERENTIES

- WAC/I/A/002, Ogenblikkelijke monstername (aan kraan) van water
- WAC/I/A/004, Tijds- en/of debietsgebonden monstername van afvalwater
- WAC/I/A/010, Conservering en behandeling van watermonsters
- WAC/I/A/011, Meting ter plaatse van temperatuur, pH, elektrische geleidbaarheid, opgeloste zuurstof, vrije chloor en gebonden chloor
- CMA/1/A.16, Monsterneming – Afvalstoffen en secundaire grondstoffen – Monsternemingstechnieken vloeistoffen
- NBN EN ISO 5667-1:2007, Water quality - sampling Part 1: Guidance on the design of sampling programmes and sampling techniques.
- NBN EN ISO 5667-3:2018, Water quality — Sampling — Part 3: Preservation and handling of water samples

¹³ Monsters met een temperatuur lager dan 8°C mogen tijdens transport tot maximaal 8°C opwarmen.

- NBN EN ISO 5667-4:2019, Water quality- sampling Part 4: Guidance on sampling of lakes, natural and man-made
- NBN EN ISO 5667-6:2016 + /A11:2020, Water quality - Sampling –Part 6: Guidance on sampling of rivers and streams
- NBN EN ISO 5667-10:2021, Water quality - sampling - Part 10: Guidance on sampling of waste water
- NPR 8066:2010, Water - Monsterneming stilstaand afvalwater
- NEN 6600-3:2010, Water - Monsterneming - Deel 3: Zwembadwater

11 BIJLAGEN

BIJLAGE A: VOORBEELDEN VAN EEN MONSTERNEMINGSFORMULIER (INFORMATIEF)

MONSTERNEMINGSFORMULIER SCHEPMONSTER

(OPPERVLAKTWER, AFVALWATER, GRONDWATER, KOELWATER, PROCESWATER, EXCL. ZWEMBAD)

Monsternemer: _____
 Tijdstip monsternamen: datum _____ uur: _____
 Monstercode: _____

Algemeen – omschrijving opdracht

Monsternamelocatie: _____
 Aanwezige personen: _____
 Type water/monsternamen: _____

☐ oppervlaktewater(OW)	☐ afvalwater (AW)	☐ koelwater	☐ andere: _____
Indien oppervlaktewater:			
☐ recreatiewater	☐ stilstaand	☐ stromend	☐ andere: _____
Toegankelijkheid OW:			
☐ oeverkant	☐ doorwaden	☐ brug	☐ boot
☐ andere: _____			

Monsternamepunt: _____
 (zie ook schetsfoto in bijlage)

GPS-coördinaten:

Schets + aanduiding
 staalname punt *:

☐ <u>Oppervlaktewater:</u>	☐ lozingspunt	☐ mengpunt / turbulentie	☐ in-/uitstroom (vers) water
☐ diepte 1 tot 1.5m			
☐ andere: _____			
☐ <u>Afvalwater:</u>	☐ afvoerbuis	☐ in en/of uitlaat WZS	☐ andere: _____
☐ meetinrichting			
☐ <u>Koelwater:</u>	☐ vergaarbak	☐ andere: _____	☐
☐ vergaarbassin	☐ luchtvochtigheidsbehandeling		
☐ koeltoren			

Beschrijving oppervlak:

☐ drijfslaag (cfr. olie)	☐ zichtbare verontreinigingen	☐ plantaardig (bladeren...)	☐ andere: _____
☐ Oppervlaktelaag verwijderd?	☐ ja	☐ nee	

Weers-/omgevingsomstandigheden (schrapen wat niet past):

wel/geen neerslag, wel/niet bewolkt, buitentemperatuur _____ °C, wind? _____ ,
 turbiditeit? _____ , stroomsnelheid? _____ ? waterplanten? _____ , andere? _____
 bezetting: ☐ baders ☐ vaartuigen ☐ andere: _____

Monsterneming

Monsternamemethode WAC/1/A/003 (beide of combinatie is mogelijk):

☐ oppervlaktelaag ☐ direct (bact.) ☐ indirect (chem.) ☐ andere: _____

Monstername-apparaat (meerdere keuzes zijn mogelijk):

☐ monsterrecipiënt ☐ schepstok + monsterrec. ☐ schepstok + beker ☐ maatbeker met handvat
☐ emmer (+ touw) ☐ hand- of peristaltische pomp ☐ andere: _____

Desinfecteren monsternamebenodigdheden:

☐ niet van toepassing ☐ sterilisatie labo ☐ thermisch (flamberen) ☐ chemisch: _____
(specificeer desinfectans)

☐ andere: _____

Diepte monsterneming

☐ oppervlak ☐ tussen -10 en -30 cm ☐ ander: _____

Afwijkingen: _____

Opmerkingen: _____

Monsterrecipiënten

Aantal gevulde recipiënten: _____

Recipiënten

☐ steriel ☐ niet steriel

Conservering (neutralisatie) bacteriologische parameters

☐ nvt (OW) ☐ 1 ml/l 1.8% natriumthiosulf. ☐ 2 ml/l 1.8% natriumthiosulf. ☐ ander: _____

Opmerkingen: _____

Metingen ter plaatse

Parameter: pH : _____ Parameter: _____: _____

Parameter: _____: _____ Parameter: _____: _____

Parameter: _____: _____ Parameter: _____: _____

Parameter: _____: _____ Parameter: _____: _____

Transport en overdracht

☐ monsternemer ☐ opdrachtgever ☐ extern: _____ ☐ andere: _____
☐ gekoeld ☐ niet-gekoeld ☐ ijswater ☐ andere: _____

Overdracht monsters aan: _____

Datum/uur: _____ Handtekening: _____

Opmerkingen: _____

MONSTERNEMINGSFORMULIER SCHEPMONSTER (ZWEMBADEN)

Monsternemer: _____

Tijdstip monstername: datum _____ uur: _____

Monstercode: _____

Algemeen – omschrijving opdracht

Monsternamelocatie: _____

Monsternamepunt:
(zie ook schets/foto in bijlage) _____

GPS-coördinaten (fac.): _____

Bezetting zwembad: ☐ geen baders ☐ _____ (aantal) baders tijdens monstername

Schets + aanduiding
staalname punt *:

Type water:
☐ zwembadwater ☐ andere: _____

Type zwembad:

☐ overdekt, circul. ☐ niet-overdekt circulatie ☐ plonsbad ☐ therapiebad
☐ dompelbad ☐ hot whirlpool ☐ therapiebad ☐ andere: _____

Indien niet-overdekt: weersomstandigheden *(schrappen wat niet past)*:
wel/geen neerslag, wel/niet bewolkt, buitentemperatuur _____ °C, wind? _____, andere? _____

Monsterneming

Monsternamemethode WAC/1/A/003 *(beide of combinatie is mogelijk)*:

☐ direct ☐ indirect ☐ andere: _____

Monstername-apparatuur *(meerdere keuzes zijn mogelijk)*:

☐ monsterreceptiënt ☐ schepstok + monsterrec. ☐ schepstok + beker ☐ maatbeker met handvat
☐ andere: _____

Desinfecteren monsternamebenodigdheden:

☐ niet van toepassing ☐ sterilisatie labo ☐ thermisch (flamberen) ☐ chemisch: _____
(specificeer desinfectans)
☐ andere: _____

Diepte monstername: ☐ tussen -10 en -30cm ☐ ander: _____

Afwijkingen: _____

Opmerkingen: _____

Monsterrecipiënten

Aantal gevulde recipiënten per monstername: _____

Recipiënten

☐ steriel ☐ niet steriel ☐ _____

Conservering (neutralisatie) bacteriologische parameters

☐ 1 ml/l 1.8% natriumthiosulfaat ☐ 2 ml/l 1.8% natriumthiosulf. ☐ _____

Opmerkingen: _____

Waarnemingen

Helderheid : _____ Schuim: _____

Zichtbare verontreinigingen: _____ Kleur : _____

Geur: _____ Andere: _____

Metingen ter plaatse

Parameter: Temp. : _____ °C Parameter totaal Cl : _____ mg/l

Parameter: pH : _____ Parameter gebonden Cl : _____ mg/l

Parameter: pH temp : _____ °C Parameter _____ : _____

Parameter: vrij beschikb. Cl : _____ mg/l Parameter _____ : _____

Transport en overdracht

Transport:

☐ monsternemer ☐ opdrachtgever ☐ extern: _____ ☐ andere: _____

☐ gekoeld ☐ niet-gekoeld ☐ ijswater ☐ andere: _____

Overdracht monsters aan: _____

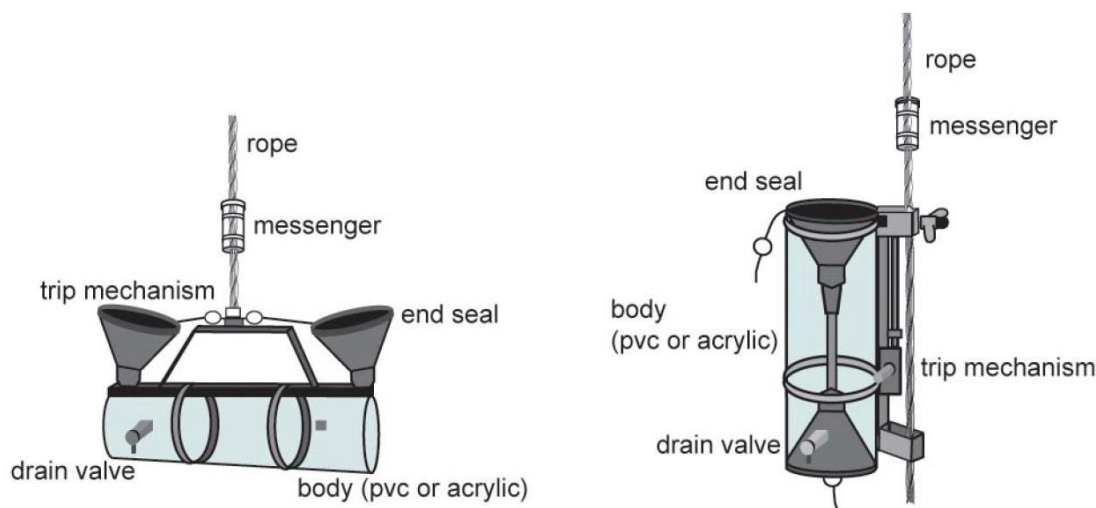
Datum/uur: _____ Handtekening: _____

Opmerkingen: _____

BIJLAGE B: VOORBEELDEN VAN GESPECIALISEERDE APPARATUUR VOOR MONSTERNEMING: CILINDRISCH MONSTERNAMETOESTEL (CMT, INFORMATIEF)

Een cilindrisch monsternametoestel bestaat uit een centraal cilindrisch recipiënt dat met kleppen onder water kan worden afgesloten. In de handel wordt een onderscheid gemaakt tussen CMT's voor respectievelijk horizontale (e.g. Van Dorn toestel met horizontale opstelling) en verticale (e.g. vloeistoflagenmonsternemer, multisampler, Van Dorn toestel met verticale opstelling Kemmerer staalnametoestel, bailer).

CMT's zijn geschikt voor monsternamening op welbepaalde diepten en bij de aanwezigheid van drijfslagen.



Voorbeelden van cilindrische monsternametoestellen: Van Dorn monsternametoestel met horizontale (links) en verticale opstelling (rechts)

B.1 Verticale CMT - vloeistoflagenmonsternemer

Verticale CMT's worden toegepast voor bemonstering van stilstaand water waarbij op een welbepaalde diepte een deel van de waterkolom moet worden bemonsterd. Deze methode is echter niet geschikt in ondiepe oppervlakte wateren (diepte <80 cm) omwille van het mogelijk opwervelen van sediment.

Een vloeistoflagenmonsternemer bestaat uit een open teflon buis die aan de onderzijde kan afgesloten worden met een stop. Dit afsluitsysteem kan bediend worden door een stang of een kabel.

B.1.1 Stangbediende vloeistoflagenmonsternemer

De stangbediende vloeistoflagenmonsternemer is geschikt voor het bemonsteren van vaten en ondiepe vloeistofrecipiënten (diepte tot 90% van de lengte van de vloeistoflagenmonster). Het apparaat is opgebouwd uit een roestvaststalen stang met onderaan een stop. Over de stang en dop past een teflon monsternamenamebuis.

Voor monsternemingen op grotere diepten is de kabelbediende uitvoering aangewezen.

Monsterneming over gehele diepte

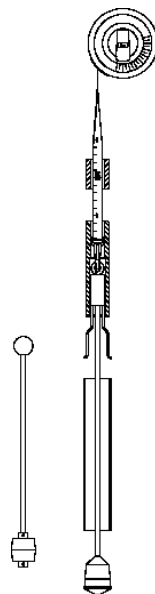
- De stang (zonder monsternamebuis) wordt met de dop naar onder naar beneden gelaten.
- De buis wordt over de stang langzaam in de vloeistof naar beneden geduwd. Op deze manier wordt een monster genomen over de gehele diepte.
- Vervolgens drukt men de buis vast op de onderstop.
- De gevulde vloeistoflagenmonsternemer kan nu voorzichtig opgehaald worden. (Eventueel wordt de buitenkant van de buis schoongemaakt met absorberend papier.)
- Om het staal te verzamelen wordt de onderkant van de buis in een monsterrecipiënt geplaatst. De buis wordt van de onderstop getrokken, zodat de vloeistof in de monsterfles kan lopen.

Monsterneming op specifieke diepte

- De buis wordt vooraf vastgedrukt op de stang met onderstop.
- De afgesloten buis laat men in de vloeistof zakken tot op de gewenste diepte (bijvoorbeeld midden van een laag). Op deze diepte wordt de buis omhoog getrokken, zodat de buis loskomt van de stop. De buis vult zich met vloeistof van die specifieke diepte.
- Na afsluiten van de buis, kan de gevulde vloeistoflagenmonsternemer opgehaald worden. (Eventueel wordt de buitenkant van de buis schoongemaakt met absorberend papier.)
- Om het staal te verzamelen wordt de onderkant van de buis in een monsterrecipiënt geplaatst. De buis wordt van de onderstop getrokken, zodat de vloeistof in de monsterfles kan lopen.

B.1.2 Kabelbediende vloeistoflagenmonsternemer

Het grote verschil met de stangbediende uitvoering is dat de (teflon) monsternamebuis van de kabelbediende vloeistoflagenmonsternemer bovenaan vastgehouden wordt door een clip. Aan de centrale stang is een teflon gecoate staaldraad bevestigd waarmee het toestel op de gewenste diepte kan gebracht worden. Eens op de gewenste diepte wordt een "boodschapper" naar beneden gelaten. Deze valt op een "ontvanger" waardoor de clip samenknijpt. De monsternamebuis wordt hierdoor van de clip verwijderd en valt op de onderste stop. Op dit moment is het monster ingesloten en kan het gevulde apparaat naar omhoog getrokken worden. Dit type wordt gebruikt om diepere opslageenheden of stilstaande waters te bemonsteren (maar ook peilbuizen bijvoorbeeld) op elke willekeurige diepte.



- Laat de vloeistoflagenmonsternemer met behulp van de kabel zakken tot op de gewenste hoogte. De vloeistof stroomt onderaan in de monsternamebuis.

- Op de gewenste hoogte wordt de boodschapper naar beneden gelaten. Hierdoor komt de clip los van de buis, en valt de buis op de onderste stop. Op dat moment is het monster ingesloten.
- Haal de vloeistoflagenmonsternemer rustig op.
- Eventueel wordt de buitenkant van de buis schoongemaakt met absorberend papier.
- Om het staal te verzamelen wordt de onderkant van de buis in een monsterrecipiënt geplaatst. De buis wordt van de onderstop getrokken, zodat de vloeistof in de monsterfles kan lopen.

B.2 Horizontale CMT - vloeistoflagenmonsternemer

Horizontale CMT's worden aangewend voor staalname van oppervlaktwater waar stroming aanwezig is. Dit toestel is zeer geschikt voor staalname van zwevende stof met een partikelgrootte > 200 µm.

**Monstername van water via een peilput, inclusief
conservering en transport**

INHOUD

1	TOEPASSINGSGEBIED	4
2	DEFINITIE	4
3	MATERIAAL, APPARATUUR EN OPLOSSINGEN	4
3.1	Algemeen	4
3.2	Apparatuur (pakket W1.4.1 en W1.4.2)	5
3.3	Extra apparatuur voor monsternamen van peilputten >30 m- mv (uitsluitend pakket 1 4.2)	6
3.4	Oplossingen en reagentia (pakket W1.4.1 en W1.4.2)	6
3.5	Materiaal en benodigdheden (pakket W1.4.1 en W1.4.2)	6
4	VOORBEREIDING MONSTERNAME	7
4.1	Informatie m.b.t. de plaatsing van de peilbuis	7
4.2	Controle op aanwezigheid drijf- en/of zinklagen	9
4.3	Opmeting waterstand en peilbuiskarakteristieken	10
4.4	Keuze monsternamemethode	10
4.5	Keuze en gebruik pompapparatuur	11
5	MONSTERNAME VAN (GROND)WATER	14
5.1	Verversen van de peilbuis of voorpompen	14
5.2	Metingen ter plaatse bij de monsternamen van (grond)water	17
5.3	Peilbuizen met 'slechte' toestroming	18
5.4	Eigenlijke monsternamen	18
5.5	Richtlijnen m.b.t. specifieke analyseparameters	21
6	VELDREGISTRATIES	22
7	RAPPORTERING	23
8	TRANSPORT	23
9	REFERENTIES	23
10	BIJLAGEN	24
	BIJLAGE A : SCHEMATISCHE VOORSTELLING PEILBUIZEN	25
A.1	Snijdende peilbuis	25
A.2	Peilbuis met volledig verzadigde filter	26
A.3	Multilevel peilput	28
	BIJLAGE B : MONSTERNAMEMETHODE: LOW FLOW VS. KLASSIEKE METHODE	29
B.1	Low flow purging of micro purging	29
B.2	Klassieke monsternamen (pompen bij hoog debiet)	30
	BIJLAGE C : KEUZE EN GEBRUIK VAN MONSTERNAMEAPPARATUUR	31
C.1	Monsteringstechnieken door opzuigen van water (zuigpompen)	31

C.2	Monsternametechnieken door opdrukken van water (perspompen)	31
C.3	Andere monsternamemethoden	33
BIJLAGE D : SPECIFICATIES VOOR VERWIJDERING VAN OPGEpomPT GRONDWATER		34
BIJLAGE E : AFWIJKENDE VOORWAARDEN VOOR HET BEMONSTEREN VAN PERCOLAATWATER VIA EEN PEILPUT		35

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de monsternamen van water met behulp van een peilput of peilbuis conform Vlare, inclusief de conservering en transport van de watermonsters. Deze monsternamen kunnen plaatsvinden op verschillende plaatsen in functie van de beoogde rubriek, bijvoorbeeld grondwaterwinningen, stortplaatsen, ontginningen, lekdetectie bij mestopslagplaatsen of opslagtanks,...

Deze methode is niet toepasbaar voor de monsternamen van grondwater in het kader van Vlarebo; hiervoor wordt verwezen naar CMA/1/A.2.

Het plaatsen van de peilbuizen of -putten behoort niet tot de procedures beschreven in het WAC. Hiervoor wordt verwezen naar CMA/1/A.2 en de code van goede praktijk in bijlage 5.53.1 van Vlare II. Voor de constructie van peilputten rond mestopslagplaatsen wordt eveneens verwezen naar bijlage 5.9 van Vlare II.

Voor de monsternamen van percolaatwater via peilputten op stortplaatsen worden in Bijlage E afwijkende voorwaarden bij de monsternamen gegeven.

2 DEFINITIE

Peilbuis: is een buis of een soortgelijke constructie (zie Figuur 1 tot Figuur 3 van BIJLAGE A) voorzien van een filterelement. In sommige gevallen kunnen in één buis meerdere filterelementen, gescheiden door blinde elementen, onder elkaar geplaatst worden. Een peilbuis wordt gebruikt om de grondwaterstand of stijghoogte te meten en voor het nemen van grondwatermonsters.

Peilput: boring waarin een of meerdere peilbuizen zijn aangebracht t.b.v. het opmeten van de grondwaterstand en/of het nemen van watermonsters. Indien een peilput meerdere peilbuizen of meetfilters op verschillende dieptes bevat, spreekt men over multilevel peilputten.

In de procedure wordt een *ondiepe grondwaterstand* (GWS) bedoeld indien het waterpeil < 8 m-mv, en een *diepe grondwaterstand* indien het waterpeil > 8 m-mv bedraagt.

3 MATERIAAL, APPARATUUR EN OPLOSSINGEN

3.1 ALGEMEEN

Al de apparatuur, oplossingen, reagentia, materiaal en benodigdheden, opgelijst in 3.2, 3.4 en 3.5, dient voorzien te worden door de erkende monsternameninstantie voor de monsternamen van peilbuizen (cfr. pakketten W1.4.1 en/of W1.4.2). Voor de monsternamen van peilbuizen >30 m-mv (pakket W1.4.2) moet de monsternameninstantie extra apparatuur cfr. 3.3 voorzien.

De toestellen en hulpmiddelen die worden gebruikt bij de bemonstering dienen zoveel mogelijk te bestaan uit materialen die inert zijn ten aanzien van de te analyseren component(en).

Alle te gebruiken toestellen en hulpmiddelen moeten goed onderhouden en schoon zijn zodat de representativiteit van de monsternamen niet nadelig wordt beïnvloed. De onderhoudsvorschriften

van de leveranciers dienen hierbij gevolgd te worden. Onderhoudsbeurten dienen in een logboek geregistreerd te worden.

Hulpmiddelen behoren regelmatig mechanisch en chemisch te worden gereinigd, bij voorkeur in het laboratorium. Het ontstaan van bijvoorbeeld doffe of verkleurde vlekken op de hulpmiddelen kan een signaal zijn dat het hulpmiddel niet meer geschikt is voor monstername.

3.2 APPARATUUR (PAKKET W1.4.1 EN W1.4.2)

- 3.2.1. Regelbare pomp(en) met instelbaar (minimaal) debiet van 100 ml/min¹ geschikt² voor het voorpompen en/of monstername van (grond)water
- 3.2.2. (Externe) (stroom)voorziening voor het aandrijven van pompen, en voldoende brandstof om het voorpompen en monstername(s) af te ronden (indien van toepassing en indien niet aanwezig/voorhanden op het terrein)
- 3.2.3. Filtreerapparatuur, geschikt voor veldfiltratie
- 3.2.4. Peillint (lengte min. 30 m met onderverdeling per cm) met visueel en/of akoestisch signaal, geschikt voor het opmeten van de grondwaterstand en de diepte van de peilbuis tot max. 30 m-mv (facultatief mits voor dit doeleinde 3.2.5 kan worden gebruikt)
- 3.2.5. Elektronische drijf-/zinklagendetector (lengte min. 30 m) met visueel en/of akoestisch signaal
- 3.2.6. Doorstroomcel (met gekend volume en luchtdicht af te sluiten) voor in-line meten van de veldparameters pH, geleidbaarheid, redoxpotentiaal en/of opgeloste zuurstof en temperatuur
- 3.2.7. Draagbare digitale thermometer of thermokoppel afleesbaar tot op 0,1°C conform WAC/I/A/011 en WAC/III/A/003 (facultatief mits voor dit doeleinde 3.2.8 of 3.2.9 wordt gebruikt)
- 3.2.8. Draagbare pH-meter met elektrode, temperatuurssonde en benodigdheden (kalibratie- en controle-oplossingen,...) conform WAC/I/A/011 en WAC/III/A/005 (ISO 10523)
Een pH-meter met driepuntskalibratie (of meer dan 3 kalibratiepunten) is aanbevolen; zoniet worden twee pH-meters gebruikt, één voor het zuur bereik en een tweede voor het basisch bereik, of wordt ter plaatse geherkalibreerd i.f.v. het pH-gebied van de te meten monsters.
- 3.2.9. Draagbare geleidbaarheidsmeter voorzien van een geleidbaarheidscel en temperatuursensor, en benodigdheden (kalibratie- en controle-oplossingen,...) conform WAC/I/A/011 en WAC/III/A/004
De geleidbaarheidsmeter dient voorzien te zijn van een geleidbaarheidscel en een temperatuursensor tot op 0,1°C nauwkeurig voor temperatuurscorrectie.
Het toestel dient instelbaar te zijn bij een referentietemperatuur van 20°C³(voor grond- en drinkwater).
- 3.2.10. Draagbare turbiditeitsmeter met infrarood lichtbron en benodigdheden (kalibratie- en controle-oplossingen,...) conform WAC/III/A/010.
- 3.2.11. Draagbare digitale zuurstofmeter met elektrochemische cel of luminescentiesensor, en benodigdheden kalibratie- en controle-oplossingen,... conform WAC/I/A/011 en WAC/III/A/008 (facultatief, indien van toepassing)
- 3.2.12. Draagbare redoxmeter met elektrode en benodigdheden controle-oplossingen, ... (facultatief, indien van toepassing)

¹ Waar technisch mogelijk

² De toepassingsmogelijkheden zijn gespecificeerd in Tabel 1 en verder gedocumenteerd in Bijlage B

³ Voor andere watertypes (afvalwater en oppervlaktewater) is de referentietemperatuur 25°C.

3.3 EXTRA APPARATUUR VOOR MONSTERNAME VAN PEILPUTTEN >30 M- MV (UITSLUITEND PAKKET 1.4.2)

Voor **toepassingen <200 m-mv** dient volgende apparatuur voorzien te worden:

- 3.3.1. Regelbare pomp(en) met instelbaar debiet geschikt² voor het voorpompen en/of monstername van peilbuizen met een (grond)waterstand tot 200 m-mv. De toepassingsmogelijkheden zijn gespecificeerd in Tabel 1 en Bijlage B.
- 3.3.2. Peillint (lengte tot 200 m) met visueel en/of akoestisch signaal
- 3.3.3. Dieptelood met lengte 200 m. Dit kan eventueel vervangen worden door het hierboven beschreven peillint uitgerust met een geschikt verzwaringsgewicht⁴ geleverd door de fabrikant.
- 3.3.4. Elektronische drijf-/zinklagendetector met een lengte van min. 50 m met visueel en/of akoestisch signaal

Voor **toepassingen >200 m-mv** dient de apparatuur ad hoc voorzien te worden in functie van de klantenportefeuille.

3.4 OPLOSSINGEN EN REAGENTIA (PAKKET W1.4.1 EN W1.4.2)

- 3.4.1. Drinkbaar⁵ of gedemineraliseerd water voor het spoelen van monstername-apparatuur
- 3.4.2. 0,1 N HNO₃ voor reiniging filtreerapparaat (indien geen wegwerp-filtreereenheden worden gebruikt)
- 3.4.3. Detergent voor het reinigen van monsternameapparatuur (bijv. Deconex)

3.5 MATERIAAL EN BENODIGDHEDEN (PAKKET W1.4.1 EN W1.4.2)

- 3.5.1. Draagbare GPS (optioneel)
- 3.5.2. Voldoende teflon en/of PE slangen voor bemonstering van totaal aantal monsters (met reserve)
- 3.5.3. Schuifpasser of meetlat met minimale onderverdeling 1 mm
- 3.5.4. Membraanfilters van 0,45 µm
- 3.5.5. Emmer met maataanduiding of weegschaal
- 3.5.6. Voldoende plastic en/of glazen monsterrecipiënten voor de te analyseren (fysico-) chemische parameters (voorgeconserveerd, indien conserveermiddel vereist). De richtlijnen m.b.t. het minimale volume water, de nodige conserveermiddelen en de te gebruiken recipiënten (bijv. plastic, glas,...) per parameter(groep) conform WAC/1/A/010 moeten gerespecteerd worden.
 - Indien de te analyseren parameter een bepaald conserveermiddel vereist conform WAC/1/A/010, wordt gebruik gemaakt van voorgeconserveerde monsterrecipiënten.
 - Elk recipiënt dient voorzien te zijn van een (voorgedrukte) label met vermelding van monstercodering, facultatief aanduiding plaats/locatie en datum monstername, analyseparameter(s) of andere eenduidige identificatie of link naar de analyseparameter(s), conserveermiddel (indien noodzakelijk).
- 3.5.7. Koelboxen met voldoende diepgevroren koelelementen of koelinstallatie om gekoeld transport van monsters te garanderen
- 3.5.8. Invulformulier voor veldregistraties (analoog of digitaal)
- 3.5.9. Absorberend papier

⁴ Volgens instructie fabrikant, reinigbaar en vlot in een peilbuis kan neergelaten en opgehaald worden

⁵ Drinkwater of leidingwater mag gebruikt worden, zolang het gebruik ervan geen aanrijking kan leveren aan de kwaliteit van het bemonsterde grondwater (bijv. nitraat,...)

- 3.5.10. Persoonlijke beschermingsmiddelen, afhankelijk van de omstandigheden van de monstername.

Wegwerphandschoenen en veiligheidsbril worden aanbevolen bij het vullen van recipiënten met conserveermiddelen.

- 3.5.11. Timer /klok / stopwatch

- 3.5.12. Fototoestel

4 VOORBEREIDING MONSTERNAME

Peilbuizen bestaan uit een kunststof of inox buis waarvan het onderste gedeelte (centimeters tot meters) geperforeerd is. Dit gedeelte, de filter, laat toe dat grondwater in de buis kan instromen. Het niet geperforeerde gedeelte van de peilbuis wordt omschreven als blinde buis of stijgbuis (zie ook BIJLAGE A).

Onder de filter wordt veelal ook een zandvang voorzien om eventuele vervuiling (slib, zand) onderaan op te vangen zonder de filter zelf te verstoppert. Deze kan een lengte hebben van enkele tientallen centimeters (bij ondiepe peilbuizen), tot verschillende meters (diepe peilbuizen). De onderkant van de peilbuis is bijgevolg niet steeds de onderkant van de filter.

Vóór de monstername van (grond)water kan aanvangen, is een goede identificatie van de peilbuis noodzakelijk. Deze identificatie houdt minimaal de kennis en/of opmeting van volgende aspecten in:

- datum plaatsing, evt. wachttijd na het plaatsen van peilbuizen
- plaatsing – filterstelling peilbuis (snijdend, niet-snijdend)
- controle aanwezigheid van drijf- en/of zinklagen
- opmeting grondwaterstand en peilbuiskarakteristieken t.o.v. referentiepunt
- controle ligging en peilbuiskarakteristieken met de aangeleverde gegevens t.b.v. de monstername (boorverslag, liggingsplan,...)

Voor de monstername van percolaatwater via peilputten op stortplaatsen worden in Bijlage E specifieke instructies gegeven.

4.1 INFORMATIE M.B.T. DE PLAATSING VAN DE PEILBUIS

4.1.1 NAGAAN FILTERSTELLING

De plaatsing van een peilbuis staat in functie van de beoogde toepassing: voor de opvolging van de waterkwaliteit bij grondwaterwinningen is de detectie van drijf- en zinklagen veelal niet van toepassing, terwijl bij peilbuizen geplaatst voor de opvolging van stortplaatsen, of lekdetectie bij mestopslagplaatsen of opslagtanks drijf- en zinklagen zeker een aandachtspunt zijn.

Voor het bemonsteren van (grond)water in peilbuizen is het belangrijk om te weten hoe de peilbuis geplaatst werd. Hierbij wordt een onderscheid gemaakt tussen:

- **snijdende peilbuis**, d.i. een peilbuis waarbij de filter de grondwatertafel snijdt (Figuur 1, bijlage A).

Voor de detectie van een mogelijke drijfslag of aanwezigheid van puur product ter hoogte van de grondwatertafel, wordt de filter altijd snijdend met de grondwatertafel geplaatst. Bij de filterplaatsing werd specifiek rekening gehouden met de lokale geologische opbouw, met

de natuurlijke schommeling van de grondwatertafel en met de locatie van eventuele verontreiniging (zie ook niet-snijdende peilbuis).

Voor monsternames met betrekking tot zware metalen en vluchtige componenten is een snijdende peilbuis in principe niet geschikt omwille van de vervluchtiging van opgeloste delen en beluchting van het (grond)water⁶. ***Indien een snijdende peilbuis toch bemonsterd wordt m.b.t. metalen of vluchtige componenten, moet dit als opmerking op het verslag vermeld worden.***

Opmerking: bij monsternamen kan beluchting van het (grond)water plaatsvinden waarbij hydroxidevorming en complexvorming in het filterelement veroorzaakt wordt zodat de peilbuis geleidelijk aan minder en minder water zal geven.

Opmerking: de monsternamen van chemische parameters die niet vluchtig en niet oxideerbaar zijn via een snijdende peilbuis, is wel toegelaten, behalve indien de mogelijkheid van co-precipitatie reëel is.

- **niet-snijdende peilbuis**, d.i. een peilbuis waarbij de filter volledig in het verzadigde gedeelte van de watervoerende laag gelegen is (Figuur 2, bijlage A).

De diepte en de lengte van de filter kan worden bepaald door de geologische karakteristieken van het terrein en de verwachte locatie van de verontreinigingen. De lengte van de filter varieert meestal tussen 0,5 m en meerdere meters, in functie van de toepassing. In het geval van peilbuizen in volledig afgesloten watervoerende lagen (Figuur 3, bijlage A) is een minimale afstand van 1 m tussen de bovenkant van de filter en het "dak" van de watervoerende laag noodzakelijk.

De plaatsing (snijdend/niet-snijdend) dient gekend te zijn op basis van het 'boorverslag', en de diepte kan worden gecontroleerd ten opzichte van die op de boorstaat, en wordt genoteerd op het formulier voor veldregistraties en wordt overgenomen op het monsternamensverslag. Deze informatie behoort in principe tot de werkopdracht voor monsternamen, en wordt bekomen via de boorbeschrijving, identificatie op de peilbuis zelf, via gegevens van de opdrachtgever en/of boorfirma die de peilbuizen geplaatst heeft.

Indien er geen informatie beschikbaar is over de plaatsing van de peilbuis, of deze gegevens verschillen met de vaststellingen op het terrein, moet dit als opmerking op het monsternamensverslag vermeld worden en wordt de peilbuis verder voorgepompt en bemonsterd.

4.1.2 RESPECTEREN PERIODE TUSSEN DE PLAATSING VAN DE PEILBUIS EN MONSTERNAME

Het plaatsen van een peilbuis veroorzaakt verstoring van de geochemische gesteldheid van de ondergrond. Vlak na het plaatsen van een peilbuis kan de samenstelling door oplossing, complexvorming en dergelijke, veranderen. De aangebrachte kleistoppen hebben ook minimum 24 uur nodig om uit te zwellen. De periode tussen de plaatsing van een peilbuis en het starten met verversen of voerpompen voor de monsternamen moet onderzoeksspecifiek vastgelegd worden; hierbij dient minimaal een periode van 1 week gerespecteerd worden.

Opmerking: De periode tussen de plaatsing van de peilbuis is afhankelijk van het type en de diepte van de boring. In sommige gevallen wordt het evenwicht pas na weken en zelfs maanden bereikt (bv. min. 6 weken wachttijd bij installatie freatisch meetnet), en wordt tevens bepaald door de hydrodynamische en hydrochemische randvoorwaarden (bv. snelheid grondwaterstroming).

⁶ Behalve wanneer het een snijdende peilbuis betreft die geplaatst werd voor 18/01/2012 (bron: CMA/1/A.2)

Indien de periode tussen plaatsing en monsternamen minder dan 1 week bedraagt, moet dit genoteerd en gemotiveerd worden op het formulier voor veldregistraties. Deze afwijking en motivatie dient tevens op het monsternamensverslag gerapporteerd te worden.

4.2 CONTROLE OP AANWEZIGHEID DRIJF- EN/OF ZINKLAGEN

Drijf- en zinklagen treden alleen op wanneer de retentiecapaciteit van de bodem wordt overschreden en mogelijks ook als er puur product ter hoogte van de grondwatertafel voorkomt (ook zonder drijf- en/of zinklaag kan er puur product voorkomen). Een drijf- en/of zinklaag heeft een dichtheid kleiner dan water. Zinklagen hebben een dichtheid groter dan water, en kunnen zich onderaan de peilbuis bevinden. De controle op de aanwezigheid van drijf- en zinklagen is noodzakelijk om te bepalen of de peilbuis nog geschikt is voor bepaling van de kwaliteit van het (grond)water, en is zeker relevant voor grondwateropvolging in peilbuizen rond stortplaatsen. Voor de opvolging van peilbuizen i.k.v. grondwaterwinningen, is deze bepaling overbodig, tenzij anders bepaald in de milieuvergunning.

De controle op drijf- en zinklagen gebeurt in één handeling met behulp van een elektronische drijf- en zinklagendetectiemeter. Dit is een peilapparaat dat specifieke licht- en/of geluidssignalen geeft wanneer het in contact komt met geleidende en niet-geleidende vloeistoffen. Een sensor aan het uiteinde van het peillint meet de geleidbaarheid en geeft bij de verschillende geleidbaarheden, geluid- en/of lichtsignalen (bv. continu en pulserend). Wanneer de sensor de drijf- en/of zinklaag bereikt, geeft deze een signaal. Als de sensor vervolgens verder in de peilbuis wordt neergelaten en het (grond)water bereikt, wordt een ander signaal gegeven. Als de sensor vervolgens nog dieper in de peilbuis wordt neergelaten en een zinklaag bereikt, wordt een ander signaal gegeven tot aan de onderkant van de peilbuis. Het hoogteverschil tussen het geven van de verschillende signalen is de dikte van de drijf- en/of zinklagen in de peilbuis. Op deze manier kan op een snelle en eenvoudige, doch vrij nauwkeurige wijze de dikte van een drijf- of zinklaag bepaald worden. Bij het meten van een drijf- en/of zinklaag moet er rekening mee gehouden worden dat olieproduct aan de sensor kan blijven hangen, waardoor een foutieve meting wordt uitgevoerd. Om dit tegen te gaan moet het overgangsvlak water/drijf- en/of zinklaag gemeten worden wanneer de sensor weer omhoog getrokken wordt vanuit het (grond)water.

Opmerking: de drijf- en/of zinklagdikte in peilbuis is een "schijnbare" dikte. De werkelijke dikte is moeilijk te bepalen. Enkel o.b.v. boringen met ongeroerde staalname kan de dikte van de puur productzone vrij goed worden ingeschat.

Opmerking: Indien met de drijf- en/of zinklagendetectiemeter een effectieve drijf- en/of zinklaag kon worden vastgesteld, is de sensor en het lint verontreinigd, en is een doorgedreven reiniging noodzakelijk alvorens deze opnieuw gebruikt wordt.

De elektronische drijf-/zinklagendetectiemeter kan eventueel als 'gewoon' peillint gebruikt worden voor het bepalen van de diepte van de peilbuis en het (grond)waterpeil (zie 3.2.4 en 3.3.2).

De hoogtemetingen en hoogteverschillen bij het geluidssignaal (dikte drijf- of zinklaag) worden genoteerd op het formulier voor veldregistraties. Deze metingen worden tevens vermeld op het monsternamensverslag.

Opmerking: de dikte van een drijf- en/of zinklaag in een peilbuis geeft veelal een overschatting van de werkelijke drijf- en/of zinklagdikte in de bodem. Puur product hoopt zich namelijk op in de peilbuis. De schijnbare dikte in de peilbuis kan enorm variëren en is o.a. afhankelijk van de (grond)waterstand.

In het geval voldoende puur product in de drijf- of zinklaag aangetroffen wordt in een peilbuis (dikte > ca. 1 cm), kan de laag bemonsterd worden met behulp van een vloeistoflaggenmonsternemer. Een monster van een drijf- of zinklaag kan ook genomen worden door de aanzuigslang van de slangenpomp op de juiste hoogte te positioneren.

In alle gevallen geldt dat, bij aanwezigheid van drijf- en/of zinklaag, het grondwater niet bemonsterd mag worden. Het verdere verloop van het grondwateronderzoek, of de mogelijkheid om de drijf-laag te bemonsteren, moet besproken worden met de opdrachtgever.

4.3 OPMETING WATERSTAND EN PEILBUISKARAKTERISTIEKEN

Voor het inbrengen van de monsternameslang en het voerpompen wordt de waterstand en de diepte van de put(ten) bepaald met een peilapparaat ten opzichte van een vast punt. Het "vaste punt" voor de peilmetingen is meestal de rand van de peilbuis of het maaiveld. Het gebruikte vaste punt moet duidelijk vermeld in de veldregistraties en monsternameverslag.

Eerst wordt het waterpeil gemeten. Dit wordt uitgevoerd met een peillint met akoestisch en/of lichtsignaal. Daarna wordt de diepte van de peilbuis opgemeten met datzelfde peillint als de diepte <30 m of met een specifiek daarvoor voorzien dieptelood als de diepte van de put >30 m (zie 3.3.3). Deze opmetingen worden uitgedrukt in meter met twee cijfers na de komma, en genoteerd op het formulier voor veldregistraties.

De interne diameter van de peilbuis wordt opgemeten met een meetlat of schuifpasser (uitgedrukt in mm met minimaal 2 beduidende cijfers).

De opeenvolgende metingen zijn:

1. waterpeil G (in m) in de peilbuis t.o.v. vast punt
2. diepte D (in m) van de peilbuis (bodem) t.o.v. vast punt
3. interne diameter d (in cm of mm)
- vaststellen van afwijkingen (bijv. andere ligging of diepte van de put dan vermeld op het boorverslag of putschema), veranderingen, beschadigingen aan de putafwerking (bijv. water in putkelder of beschadigde koker met risico tot verontreiniging), peilbuis of filter (bijv. defecte peilbuis, veel slib aan het peillint). Afwijkingen vastleggen aan de hand van foto('s) en vermelding in het formulier voor veldregistraties.

Opmerking: sommige filters zijn artesisch en uitgerust met een manometer. Hier kan dan ook geen peil- en dieptemeting worden uitgevoerd. Wel dient de druk te worden afgelezen (in bar) en dient deze omgerekend te worden naar stijghoogte in m (1 bar wordt gerapporteerd als -10 m)

Speciale aandacht moet worden besteed aan het opmeten van multilevelputten (*Figuur 4* en *Figuur 5*, Bijlage A). Het komt immers vaak voor dat er meerdere peilbuizen voorkomen in éénzelfde boorgat. Het is bij deze putten zeker van belang dat men elke peilbuis in die put ook nauwkeurig opmeet.

Opmerking: de meldingen op de putdoppen of peilbuizen komen immers niet steeds overeen met de realiteit aangezien die wel eens 'verwisseld' worden.

De waterstanden en dieptes van alle peilbuizen moeten in **multilevelputten** eerst opgemeten worden vooraleer er in één van de peilbuizen wordt voorgepompt. De bemonstering is steeds de combinatie van voerpompen en monsternamen, altijd te beginnen met de meest ondiepe filters te bemonsteren, vervolgens de tweede minst diepe enz.... en het laatst de meest diepe.

Opmerking: een afpomping in één filter kan in bepaalde gevallen een andere filter 'beïnvloeden'. Afwijkingen van het initiële waterpeil in een peilbuis na het bemonsteren van een ondiepere peilbuis in dezelfde put worden genoteerd in het formulier voor veldregistraties.

4.4 KEUZE MONSTERNAMEMETHODE

Qua monsternamemethode wordt er een onderscheid gemaakt tussen 2 technieken:

- **“klassieke” methode:** het water wordt bij hogere pompdebieten (>500 ml/min, maar vaak >5 l/min) boven het filtergedeelte weggepompt. Dit voorpompen wordt beëindigd wanneer minimaal 5 keer het volume van *de waterkolom in de peilbuis* wordt opgepompt. Deze methode van voorpompen wordt in regel gevolgd door een monstername bij laag debiet (<500 ml/min).
- **“low flow purging/sampling” of “micro-purging”** : Bij deze techniek wordt het voorpompen uitgevoerd bij laag debiet (100-500 ml/min) ter hoogte van de filter. Dit voorpompen wordt beëindigd wanneer minimaal 5 keer de het volume van *de waterkolom in het filtergedeelte* wordt opgepompt. De low flow methode wordt vaak uitgevoerd in combinatie met een peristaltische pomp (slangenpomp).

Opmerking: Bij low flow purging/sampling wordt voorkomen dat gronddeeltjes uit de te bemonsteren laag vrijkomen, dat de natuurlijke toestroming van de watervoerende laag wordt overschreden, of dat het filtergedeelte aan de lucht blootgesteld wordt (waterpeil mag nooit onder de bovenkant van de filter komen te staan), tenzij het om snijdende peilbuizen gaat. Op deze manier wordt enkel het water in het filterdeel van de peilbuis ververs, en niet in het ‘dood volume’ boven de filter. Het voordeel van deze methode is dat de hoeveelheid opgepompt water hierdoor ook aanzienlijk beperkt wordt.

De opdrachtgever of monsternemer moet een **oordeelkundige keuze in de toe te passen monsternamemethode** opleggen resp. maken in functie van het specifieke doel van de monstername en de constructie, filterstelling (zie §4.1) en ouderdom van de peilbuis. De lage debieten bij “low flow purging” kunnen bovendien niet met alle pompsystemen behaald worden (ook afhankelijk van de situatie), of lage-debietpompsystemen (vaak vacuümtrekkende pompen) hebben een beperking qua opvoerhoogte. Maar ook andere beweegredenen kunnen de keuze van de monsternamemethode bepalen; in BIJLAGE B worden een aantal kenmerken van beide technieken besproken.

Voor de monstername van percolaatwater via peilputten op stortplaatsen worden in Bijlage E afwijkende voorwaarden bij de monsternamemethode gegeven.

De gebruikte monsternamemethode moet in elk geval gerapporteerd worden in het monsternameverslag.

4.5 KEUZE EN GEBRUIK POMPAPPARATUUR

De pompapparatuur wordt geselecteerd in functie van de gekozen monsternamemethode en moet tevens voldoen aan fysische vereisten bij de monstername zoals putdiepte, interne diameter van de peilbuis en waterpeil (opvoerhoogte), en mag tevens de fysico-chemische samenstelling van het bemonsterde water niet beïnvloeden.

Maar verder vormt het risico op contaminatie door de pompapparatuur een belangrijk criterium in de keuze van monstername-apparatuur. Het pomphuis dient uit inox of zo mogelijk uit teflon of ander inert materiaal vervaardigd te zijn om chemische reacties met het (grond)water zoveel mogelijk te vermijden. Alle delen van de monsternameapparatuur die in contact komen met (grond)water, moeten reinigbaar of vervangbaar zijn, zoniet is de betreffende pompapparatuur niet toelaatbaar voor gebruik binnen deze WAC.

In Tabel 1 worden de toepassingsmogelijkheden voor voorpompen en bemonstering van de toegelaten pomptechnieken voor grondwater⁷, weergegeven. Meer informatie over deze pomptechnieken wordt gegeven in BIJLAGE C.

⁷ Voor percolaatwater: zie BIJLAGE E

Tabel 1: Toepassingsmogelijkheden van pompapparatuur voor monsternamen van grondwater in peilputten

	Max. waterpeil (m)	Min. benodigde binnendiameter (mm)	evaluatie toepasbaarheid voor monsternamen van grondwater				"standaard"-apparatuur voor monsternamen van peilbuizen
			Geschiktheid voor voerpompen	Geschiktheid voor in-line filtratie	Risico op	Geschiktheid voor analyse	
Slangenpomp of peristaltische pomp	7	25	+	+	+ ^g	+	j a
Balgpomp	40	25	+	+	+/- b	-	
Dubbele kleppomp	150	25 of 50 (type-afhankelijk)	+	+	+		
Pulsslang (kogelkleppomp)	60	25		+ / -	-	+	
Dompelpomp (onderwatercentrifugaal-pomp)	80 ^e	50 ^e	+	+	+/- b	+	j a
	200 ^f	85 à 90 ^f					
12 V pompjes (DC-pompjes) ^g	9 (18,27,35) ^a	37	+ ^c	+	+/- b, c	+	
+ geschikt +/- weinig geschikt - niet toegelaten binnen deze WAC-procedure a indien resp. 1, 2 of 3 boosterpompen gekoppeld worden b mits spoelen van pomp+slang met zuiver water van drinkwaterkwaliteit ⁵ na elk gebruik en geen visuele verontreiniging (binnen- en buitenkant) van de opvoerslang of vervanging van volledige slang c enkel eenmalig gebruik pomp/booster toegelaten binnen deze WAC-procedure e specificaties geldend voor type Grundfos MP1-pomp f specificaties geldend voor type Grundfos SQE-pomp g mits volledige vervanging van slangen							

Bij de keuze van de pomptechniek moet de haalbaarheid van de lage debieten voor het voerpompen en/of de eigenlijke monsternamen (verplicht bij laag debiet) overwogen worden.

Bij de klassieke methode kan in principe een combinatie van 2 pomptechnieken voor voerpompen (zie §5.1) en monsternamen (zie §5.4) gemaakt worden. Het voerpompen en monsternamen gebeurt echter bij voorkeur met éénzelfde pomp(systeem). Het veranderen van pomp(systeem) is enkel toegelaten indien de monsternamen technisch (omwille van opvoerhoogte) niet kan uitgevoerd worden met het pomp(systeem) dat bij het voerpompen gebruikt werd, én op voorwaarde dat een minimale hoeveelheid water met de 2^e pomp onttrokken wordt.

Het wisselen van pompsysteem tijdens of na het voerpompen is niet toegelaten indien het principe van low flow purging toegepast werd. Door het wisselen van pompen wordt het ververste water ter hoogte van de filter dan gemengd met de niet-ververste waterkolom boven het filtergedeelte.

Voor de monsternamen van percolaatwater via peilputten op stortplaatsen worden in Bijlage E afwijkende voorwaarden bij de keuze van de pompapparatuur gegeven.

⁸ Deze zijn slechts eenmalig te gebruiken

Indien de monsternamen via de aangehaalde pomptechnieken niet mogelijk is, en er toch een monster van het aanwezige water in de peilbuis dient genomen te worden, kunnen alternatieve monsternametechnieken toegepast worden (zie Bijlage C.3).

Aandachtspunten

- In regel wordt voor *elke peilbuis een nieuwe aanzuig- of opvoerslang* gebruikt, die ook na elke monsternamen wordt verwijderd.
- Bij gebruik van onderwaterpompen (m.u.v. 12 V pompjes⁸) wordt op deze regel een uitzondering gemaakt (indien slang >10 meter):
 - *de slang moet minimaal jaarlijks* vervangen worden of zodra deze een visuele verontreiniging van binnen –en/of buitenkant aanwezig blijft na spoelen met zuiver water en/of detergent.
 - Indien onderdelen (vb. stroomkabel) aan een aanzuig- of opvoerslang dienen te worden vastgemaakt mag dit enkel met behulp van kabelbinders gebeuren en zeker niet door gebruik te maken van kleeftape of lijm.
 - na elke peilbuis wordt de opvoerslang en pomp volledig gespoeld met zuiver water van drinkwaterkwaliteit⁵.
 - *Op het einde van de monsternamedag* wordt grondig gespoeld met *warm water en detergent* en overvloedig nagespoeld met zuiver water van drinkwaterkwaliteit⁵.
- *Elke spoeling, vervanging en/of onderhoudsbeurt wordt genoteerd in een logboek.*
- Turbulentie en belvorming in de slangen moet worden vermeden, zowel bij voerpompen (meting veldparameters) als bij het nemen van de monsters zelf.

5 MONSTERNAME VAN (GROND)WATER

De monstername van water via peilbuizen of -putten bestaat steeds uit een combinatie van het verversen van het aanwezige water in de peilbuis (zie §5.1) en de eigenlijke monstername (zie §5.4). De eigenlijke monstername kan pas aanvangen wanneer de peilbuis voldoende ververst werd.

5.1 VERVERSEN VAN DE PEILBUIS OF VOORPOMPEN

Voor de eigenlijke monstername moet een peilbuis worden 'ververst' of voorgepompt zodat (grond)water van de watervoerende laag naar de peilbuis stroomt en in situ-water kan worden bemonsterd.

5.1.1 VOLUME VOORPOMPEN

5.1.1.1 LOW FLOW PURGING

Een peilbuis wordt **minimaal** ververst totdat aan volgende criteria voldaan werd:

- een gepompt volume via het principe van 'low flow sampling' dat overeenkomt met **5 x de waterkolom in het filtergedeelte** (F-D) van de peilbuis
- **en** totdat de in situ gemeten veldparameter **geleidbaarheid gestabiliseerd** is (zie §5.1.4).

Het (enkelvoudig) volume van het water in het filtergedeelte (V_F , in l) wordt als volgt berekend:

$$V = \frac{\pi \times (d / 2)^2 \times (D - F)}{10}$$

Met:	d	interne diameter peilbuis (cm)
	F	diepte bovenkant filterdeel t.o.v. vast punt (m)
	D	diepte peilbuis t.o.v. vast punt (m)
	D-F	lengte waterkolom in het filtergedeelte (m)

Opmerking: Bij sommige putten heeft de filter een kleinere diameter (om boorkosten te drukken). Deze vernauwing kan, zeker voor diepe peilputten, een aanzienlijk verschil uitmaken in de berekening van de inhoud van de peilbuis en het af te pompen volume.

Wanneer niet aan deze criteria kan voldaan worden, moet meer volume water voorgepompt worden: minimaal 5 x waterkolom in de peilbuis (G-D d.i. waterkolom in filter én in stijgbuis) cfr. 5.1.1.2.

Voor de monstername van percolaatwater via peilputten op stortplaatsen worden in Bijlage E afwijkende voorwaarden bij het voorpompen gegeven.

5.1.1.2 KLASSIEKE MONSTERNAME METHODE

- Een peilbuis wordt **minimaal** ververst met een volume dat overeenkomt met:
 - 5 x de lengte van de waterkolom in de peilbuis ('natte' inhoud peilbuis)
 - **en** wanneer de in situ gemeten veldparameters **pH en geleidbaarheid** (en/of opgeloste zuurstof) **gestabiliseerd** zijn.

Het (enkelvoudig) volume van het water in de peilbuis (V_p , in l) wordt als volgt berekend:

$$V = \frac{\pi \times (d/2)^2 \times (D - G)}{10}$$

Met:	d	interne diameter peilbuis (cm), zie opmerking 5.1.1.1
	G	(grond)waterpeil t.o.v. vast punt (m) of evenwichtspeil ($G_{\text{evenwicht}}$) tijdens het pompen van peilbuizen met slechte toestroming (zie § 0)
	D	diepte peilbuis t.o.v. vast punt (m)
	D-G	lengte waterkolom in de peilbuis (m)

Voor de monsternamen van percolaatwater via peilputten op stortplaatsen worden in Bijlage E afwijkende voorwaarden bij het voorpompen gegeven.

5.1.2 UITVOERING VOORPOMPEN

5.1.2.1 ALGEMEEN

- Bereken de hoeveelheid voor te pompen (grond)water (§5.1.1) in functie van de gekozen monsternamemethode, en noteer op het formulier voor veldregistraties.
- Kies een pomp in functie de gekozen monsternamemethode, diepte peilbuis, GWS en diameter van de peilbuis volgens Tabel 1, BIJLAGE B en BIJLAGE C .
Indien het principe van low flow purging/sampling wordt toegepast, ga verder met §5.1.2.2; indien de klassieke methode toegepast wordt, ga verder met §5.1.2.3
- Zuig eventueel het bezinksel op de bodem voorzichtig weg. Sluit de doorstroomcel pas aan nadat het bezinksel weggezogen is om verontreiniging van de doorstroomcel te vermijden.
- Bepaal steeds het effectieve volume van het afgepompte water tijdens het voorpompen: in een emmer met schaalverdeling, via massabepaling met een weegschaal, of via het pompdebiet en -tijd na stabilisatie van het waterpeil en extrapolatie naar opgepompt volume water. Noteer het effectieve afgepompte volume water op het formulier voor veldregistraties.
- De pomp mag na het voorpompen in geen geval stilgelegd worden; het pompdebiet wordt overgeschakeld naar het debiet bij monsternamen (§5.4).

5.1.2.2 LOW FLOW PURGING

- Hang de aanzuigopening (slang of onderzijde pomp) ter hoogte van de filter. Op deze manier wordt het voorpompen uitgevoerd enkel in het filterdeel van de peilbuis, en niet in het 'dood volume' boven de filter. De bovenliggende waterkolom wordt op deze wijze niet "ververst".

Opmerking: Het gebruik van packers⁹ is zeker nuttig bij 'low flow sampling'.

Opmerking: De aanzuigopening hoger positioneren dan net boven het filterdeel, is toegelaten op voorwaarde dat minimaal 5 x de waterkolom in de peilbuis voorgepompt wordt (klassieke monsternamen, zie 5.1.2.3).

- Start het voorpompen bij een debiet van max. 500 ml/min. Voerpompen bij snijdende peilbuizen moet uitgevoerd worden bij een debiet van 100 ml/min.
- Koppel een (luchtdichte) doorstroomcel aan de uitstroomopening en laat het opgepompte water door de doorstroomcel stromen.
- Peil het waterpeil in de peilbuis continu tijdens het voorpompen:

⁹ Dit is een soort ballon die via de slang in de put wordt gebracht en boven de filter wordt opgeblazen. Op deze manier is de bovenliggende waterkolom in de stijgbuis afgesloten en is men zeker dat enkel de onderliggende waterkolom ververst wordt.

- o het waterpeil mag niet meer dan 10 cm dalen ten opzichte van het waterpeil G voorafgaand aan het voerpompen en mag niet onder de bovenzijde van de filter zakken (tenzij het om een bestaande snijdende peilbuis gaat). Als het waterpeil te veel daalt, moet de pompsnelheid verlaagd worden (in stappen van 100 ml/min) totdat het waterpeil zich stabiliseert. Een minimale pompsnelheid van 100 ml/min mag evenwel worden aangehouden.
- o **Peilbuizen >30 m-mv** mogen voorgepompt worden met een debiet hoger dan 500 ml/min, op voorwaarde dat de 'natuurlijke' toestroming van het (grond)water niet overschreden wordt (stabilisatie - evenwichtspeil). Een daling van het (grond)waterpeil in de peilbuis tot 50 cm is hierbij toegelaten; bij een daling > 50 cm in de peilbuis moet de melding "verhoogd debiet/stabilisatie >50 cm" op het monsternameverslag gemaakt worden.
- Het evenwichtspeil wordt genoteerd op de veldregistraties.
- Het voerpompen kan worden beëindigd indien aan de criteria in §5.1.1.1 wordt voldaan.

5.1.2.3 KLASSIEKE MONSTERNAME

- Positioneer de aanzuigopening boven het filterdeel .
- Start het voerpompen bij een debiet > 500 ml/min, op voorwaarde dat het water continu gepeild wordt en het pompdebiet zo ingesteld wordt dat er stabilisatie van het waterpeil optreedt. Het filtergedeelte mag hierbij niet aan de lucht blootgesteld worden (waterpeil mag nooit onder de bovenkant van de filter komen te staan), tenzij het om snijdende peilbuizen gaat.
- Koppel een (luchtdichte) doorstroomcel aan de uitstroomopening en laat het opgepompte water door de doorstroomcel stromen. De doorstroming van hoge debieten door de doorstroomcel kan problemen veroorzaken (lektheid). Een driewegventiel of bypassmogelijkheid voor de doorstroomcel is hier aangewezen.
- Het evenwichtspeil wordt genoteerd op de veldregistraties.
- Het voerpompen wordt beëindigd indien aan de criteria in §5.1.1.2 wordt voldaan.

Let op: als er met (te) hoge debieten in of ter hoogte van het filtergedeelte wordt gepompt, bestaat het risico van beschadiging van de filter in geval van drukverhoging door enorme peilverlaging (vooral bij diepe filters). Ook kan er zand/ slib mee opgezogen worden waardoor de pomp beschadigd kan worden.

5.1.3 OPVOLGEN VELDPARAMETERS TIJDENS VOERPOMPEN¹⁰

- Bij het voerpompen worden in een luchtdicht afgesloten doorstroomcel minimaal de parameters geleidbaarheid en pH opgemeten, en, voor een complete monitoring, ook redoxpotentiaal en het zuurstofgehalte (zie §5.2). Op deze manier komen grondwater noch elektrode in contact met de (versturende) atmosfeer tijdens de meting. Eventueel resterende openingen (voor bijkomende sondes) in het deksel van de doorstroomcel worden met dopjes luchtdicht afgesloten.
- Tijdens de metingen van de parameters in de doorstroomcel mag het pompen niet stilgelegd worden.
Tijdens de meting van de redoxpotentiaal en het zuurstofgehalte dient gelet te worden op het ontstaan van luchtbelletjes nabij de elektrode in de doorstroomcel. Indien luchtbelletjes aanwezig zijn dient het debiet van de pomp te worden aangepast (verlaagd) en/of dient de luchtdichte sluiting van het pompsysteem en de doorstroomcel gecontroleerd te worden. Bij een slechte toestroming van (grond)water zijn luchtbelletjes niet te vermijden. De metingen worden

¹⁰ voor grondwater

zo sterk verstoord dat de gemeten waarden voor zuurstof en redoxpotentiaal volkomen onbetrouwbaar en dus weinig bruikbaar zijn (hooguit indicatief).

5.1.4 STABILISATIE VELDPARAMETERS¹⁰

Om stabilisatie van veldparameters vast te stellen worden er minimaal 3 metingen van de opgevolgde veldparameters uitgevoerd en geregistreerd:

- de startwaarde(n) bij aanvang voerpompen
- een tussenwaarde(n) tijdens het voerpompen
- de gestabiliseerde eindwaarde(n) aan het einde van het voerpompen

Een meting van veldparameters wordt afgelezen bij doorstroming door de doorstroomcel over een tijdspanne van 1 minuut.

Stabiliteit van de veldparameters wordt bereikt wanneer de voorgaande meting:

- maximaal 1% afwijkt van de gemeten waarde voor geleidbaarheid (EC) voor meetwaarden > 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ of maximaal 5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ afwijkt voor meetwaarden $\leq 1000 \mu\text{S}/\text{cm}$;
- maximaal 0,1 pH-eenheden afwijkt voor pH;
- maximaal 0.2 mg/l (voor waarden <2 mg/l) of 0.4 mg/l (voor waarden >2 mg/l) voor opgeloste zuurstof (O_2);
- maximaal 0,2°C afwijkt voor temperatuur (T).

Tussen 2 metingen moet minimaal het volume van de doorstroomcel mét de aanzuigslangen doorgepompt zijn.

Wanneer geen stabiliteit van (bepaalde) veldparameter(s) wordt bereikt wordt dit genoteerd in de veldregistraties.

5.2 METINGEN TER PLAATSE BIJ DE MONSTERNAME VAN (GROND)WATER

De gestabiliseerde eindwaarden na het voerpompen worden gerapporteerd op het analyseverslag. Veldmetingen van pH, T, Ec, O_2 (en ORP) via meting in afzonderlijke, beluchte meetrecipiënten kunnen niet worden aanvaard. Voor de meting zelf, kalibraties en controles van voornoemde parameters wordt verwezen naar WAC/I/A/011.

In specifieke gevallen kan ook het opmeten van bijkomende parameters door middel van ion-selectieve electrodes (e.g. H_2CO_3 , HCO_3^- , CO_3^{2-} , Fe^{++} , S^{2-}) voorafgaand aan de monstername, gewenst zijn.

Na het voerpompen en stabilisatie van de veldparameters en vóór bemonstering wordt de troebelheid aan de hand van een turbiditeitsmeter bepaald en de waarde wordt genoteerd op de veldregistraties.

Opmerking: de meting van de troebelheid dient ter plaatse gemeten te worden voordat de recipiënten gevuld worden (§5.4.2). Analyse van de troebelheid in het labo is niet toegelaten.

Opmerking: bij gestabiliseerde waarden van de veldparameter(s) zou de meting van de troebelheid 10 FNU (Formazine Turbidity Units) of lager moeten aangeven.

5.3 PEILBUIZEN MET 'SLECHTE' TOESTROMING

Men spreekt van een slechte toestroming indien:

- i. Low flow: het waterpeil zelfs bij voorpompen bij een zeer laag debiet (100 ml/min) meer dan 50 cm daalt én er ook geen stabilisatie van het (grond)waterpeil wordt bereikt.
- ii. Klassieke monstername: er (zelfs na verlagen van het pompdebiet) geen stabilisatie van het waterpeil wordt bereikt

Volgende situaties kunnen worden onderscheiden:

- Er is zodanig voorgepompt dat de veldparameter(s) zijn gestabiliseerd, maar onvoldoende voor 5 x het te verversen volume; de filter staat nog volledig onder water en is tijdens het voorpompen niet belucht. De monstername kan gewoon doorgaan, indien minimaal 3 x het te verversen volume werd opgepompt. Op het formulier voor veldregistraties en monsternameverslag wordt "slechte toestroming" en het aantal verversingscycli bij het voorpompen als afwijking genoteerd.
- De filter werd gedeeltelijk belucht tijdens het voorpompen. De in-line bepaling van veldparameters zoals O₂ en redoxpotential (en temperatuur) is zinloos.

Indien toch een monster wordt genomen, zorg ervoor dat er voldoende water in peilbuis is om alle nodige monsterrecipiënten te vullen. De monstername dient evenwel binnen 24 h na voorpompen uitgevoerd te worden. Op het formulier voor veldregistraties en monsternameverslag wordt minimaal 'slechte toestroming / beluchting tijdens monstername' als afwijking vermeld met bijhorende motivatie.

Desgevallend wordt, in overleg met de opdrachtgever, overwogen of het herplaatsen van een peilbuis met een betere voeding nodig/mogelijk is.

Indien het opgepompte water troebel blijft dient dit op het formulier voor veldregistraties en monsternameverslag (+ eventuele foto's van de doorstroomcel) genoteerd te worden.

5.4 EIGENLIJKE MONSTERNAME

Als het water ter hoogte van het filtergedeelte voldoende verversst werd (zie §5.1), kan de eigenlijke monstername aanvangen. De monstername wordt uitgevoerd bij laag debiet.

5.4.1 UITVOERING

- De monstername volgt onmiddellijk op het voorpompen. De pomp moet voldoen aan de voorwaarden vermeld in Tabel 1 in Bijlage B.
- Koppel doorstroomcel af of sluit de toevoer van de driewegventiel of bypas naar de doorstroomcel
- De monstername gebeurt altijd ter hoogte van het filterelement. Positioneer de aanzuigopening (slang of onderzijde pomp) halverwege de filter (low flow) of ter hoogte van de bovenzijde van het filterdeel (klassieke methode). Let er op dat de aanzuigopening minimaal 0,5 m boven de onderzijde van de filter geplaatst is. Tijdens de monstername mag het waterpeil niet zakken tot in het filterdeel (filter belucht), tenzij de monstername wordt uitgevoerd op een bestaande snijdende peilbuis.

Voer de monstername uit bij hetzelfde of een lager pompdebiet dan bij het voorpompen. Eventueel wordt het debiet in de monsternameslang bijkomend 'gesmoord' (bijv. via by-pass of met dunnere slang in opvoerslang). Het debiet waarmee de recipiënten gevuld wordt, komt overeen met:

- o algemeen: 100-200 ml/min (richtinggevend), afhankelijk van de te analyseren parameters

- o snijdende peilbuizen: 100 ml/min (richtinggevend)
 - o monstername vluchtige parameters: monsternamedebiet 100-200 ml/min (dwingend)
- Vul de benodigde recipiënten voor de analyses conform §5.4.2. Zorg dat de slang waarmee de recipiënten gevuld worden, proper is langs de binnen- en buitenzijde.
- Monstername met betrekking tot vluchtige parameters (VOC) of zware metalen mag enkel gebeuren uit peilbuizen met een niet-snijdende filterstelling, behalve wanneer het bestaande snijdende peilbuizen betreft die geplaatst werden voor 18/01/2012.
- Het is niet toegelaten om mengmonsters uit verschillende peilbuizen te maken (tenzij uitdrukkelijk opgelegd door de opdrachtgever en mits melding op het monsternameverslag).

5.4.2 VULLEN VAN RECIPIËNTEN

Daar de verschillende analytische methodes verschillende conserveringen vereisen, wordt het water opgevangen in verschillende monsterrecipiënten en ter plaatse geconserveerd. Voor de specifieke richtlijnen voor conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010. **Bij voorkeur wordt gebruikt gemaakt van voorgeconserveerde recipiënten** (indien conserveermiddel nodig is). De maximale bewaartermijn van de conserveermiddelen dient steeds gerespecteerd te worden.

De verschillende monsterrecipiënten worden net voor het vullen geopend. Indien de dop zonodig dient neergelegd te worden, leg deze dan omgekeerd op een proper oppervlak.

Om contaminaties en/of verliezen van de beoogde analyseparameter te vermijden moeten de verschillende monsterrecipiënten in een welbepaalde volgorde gevuld worden. Voor nadere instructies i.v.m. de volgorde wordt verwezen naar §0.

Volgende methode kan de luchtinslag bij het vullen van de recipiënten helpen vermijden:

- de recipiënt schuin houden
- de PE-slang tot onderaan in de recipiënt brengen
- het contact tussen de PE-slang en de stijgende vloeistof in de recipiënt minimaal houden (max. 0,5 cm)
- de PE-slang mee opvoeren langs de wand met de stijgende vloeistofspiegel (**contact buitenkant slang met vloeistofspiegel vermijden**)
- na afvulling van een recipiënt **met conserveermiddel**, het gedeelte van de **siliconen** slang dat in **de recipiënt werd gebracht** verwijderen (i.e. schuin afknippen) alvorens een volgend recipiënt te vullen **contact is geweest met conserveermiddel**.
- ~~bij het vullen van een recipiënt voor VOC bepaling mag de slang niet in het recipiënt aangebracht worden.~~

De recipiënten moeten belvrij worden afgevuuld. Een minimale overvulling, waarbij gelet wordt op een beperkt verlies van conserveermiddel (meestal in overmaat aanwezig), is toegelaten (i.e. voorzichtig vullen tot een bolvormig scheidingsvlak tussen vloeistof en lucht ontstaat, welke vervolgens onmiddellijk wordt 'doorbroken' door de schroefdop aan te brengen). Indien na bemonstering blijkt dat luchtbellens in een recipiënt aanwezig zijn, kunnen deze recipiënten voorzichtig worden bijgevuuld, met uitzondering van de recipiënten voor VOC (opnieuw afvullen in nieuwe recipiënt).

Vermijd overlopen van voorgeconserveerde monsterrecipiënten om verlies van het conserveermiddel te vermijden. Bij overlopen moet steeds een nieuwe monsterrecipiënt voor de parameter(s) in kwestie gevuld worden. Zorg dus steeds voor voldoende extra monsterrecipiënten van de te analyseren parameters.

5.4.3 VULVOLGORDE

Bij het vullen van de monsterrecipiënten dienen onderstaande instructies gerespecteerd te worden:

1. Recipiënt(en) zonder conserveringsreagentia
2. Recipiënten met vaste conserveringsreagentia
3. Recipiënt(en) met vloeibare conserveringsreagentia

Bij het vullen van recipiënten met conserveringsmiddelen dient rekening gehouden te worden met een volgorde van vullen om contaminatie van een volgend monster via de conserveringsreagentia te vermijden. Voorbeeld: een recipiënt bestemd voor nitraatbepaling mag niet volgen op het vullen van een recipiënt met salpeterzuur. Een recipiënt metaalanalyse mag niet gevuld worden na het vullen van een recipiënt met kaliumdichromaat wegens risico op Cr-contaminatie.

Alle handelingen bij het vullen moeten zo snel mogelijk na elkaar volgen. Het is dan ook zeker zinvol en tijdsbesparend om de vulvolgorde van monsterrecipiënten kenbaar te maken op de recipiënten (via nummering of codering). Hierbij worden enkel door het laboratorium aangeleverde monsterrecipiënten gebruikt, die proper gestockeerd en lekdicht afgesloten zijn.

Eventuele richtlijnen qua vulling (bijv. geen vrije ruimte) in WAC/I/A/010 moeten gerespecteerd worden.

Afwijkingen m.b.t. vulvolgorde zijn enkel toegelaten mits duidelijke motivatie ervan in het monsternameverslag.

5.4.4 FILTRATIE GRONDWATERMONSTERS¹¹

5.4.4.1 METALEN

De grondwatermonsters voor metalen worden ter plaatse gefiltreerd om bodemdeeltjes en daaraan geadsorbeerde parameters, te verwijderen. Het grondwater wordt gefiltreerd over een filter met poriegrootte 0,45 µm. Eventueel kan deze worden gecombineerd met een grovere (voor)filter om dichtslibben te vermijden.

Opmerking: Door kwikadsorptie aan de filtermembranen kunnen kwikconcentraties onderschat worden.

De filters, alsook het filtreerapparaat zelf, mogen de te analyseren parameters niet beïnvloeden. Voor het filtreerapparaat wordt bij voorkeur gebruik gemaakt van een in-line filter die in serie is geplaatst tussen de peilbuis en de te vullen recipiënt. Het toetreden van buitenlucht wordt hierbij vermeden. Het filtreerapparaat bestaat uit een bovenplaat met inlaatopening, zeven ter ondersteuning van de 0,45 µm filter, afdichting en een onderplaat met uitlaatopening. Na elk gebruik moet het volledige apparaat grondig gereinigd worden m.b.v. 0,1 N HNO₃ en vervolgens 2 maal nagespoeld met gedemineraliseerd water. Minstens 1 maal per week, maar bij voorkeur aan het einde van elke monsternamedag, moet het toestel gereinigd worden met warm water en detergent. Het risico op contaminatie is reëel bij onvoldoende reiniging. Er bestaan ook plastic wegwerpfiltreereenheden met in- en uitlaatzijde, welke slechts éénmalig gebruikt kunnen worden.

¹¹ Voor de monstername van percolaatwater via peilputten op stortplaatsen worden in Bijlage E afwijkende voorwaarden bij de monsterbehandeling gegeven.

5.4.4.2 ANDERE ANORGANISCHE PARAMETERS

Voor anorganische parameters wordt vooraf WAC/I/A/010 geconsulteerd. Indien filtratie ter plaatse voor de parameter in kwestie relevant is, is de instructie in WAC/I/A/010 als opmerking opgenomen.

5.4.4.3 ORGANISCHE PARAMETERS

Organische parameters (VOC, PAK, minerale olie, ...) worden in regel niet gefiltreerd ter plaatse.

Voor verdere monsterbehandeling bij aankomst in het labo wordt verwezen naar de desbetreffende WAC-procedure

5.4.5 AANDACHTSPUNTEN

Volgende voorzorgen worden genomen om contaminatie van de monsters te beletten:

- Enkel door het laboratorium aangeleverde (voorgeconserveerde) recipiënten gebruiken, die proper gestockeerd en lekdicht afgesloten zijn.
- Het handgespannen en lekdicht afsluiten van alle recipiënten na het vullen controleren
- De monsters zo snel mogelijk koel en van het licht afgeschermd stockeren vóórdat ze naar het laboratorium getransporteerd worden.

5.5 RICHTLIJNEN M.B.T. SPECIFIEKE ANALYSEPARAMETERS

5.5.1 PFAS

Wanneer monsternames gebeuren in het kader van PFAS-analyses, moet rekening worden gehouden met volgende richtlijnen:

- In de mate van het mogelijke moet nagegaan worden (bij de leverancier / aan de hand van analyses) of het materiaal gebruikt bij de monstername voor analyse op PFAS, PFAS kan bevatten. Een overzicht van mogelijke PFAS-houdende elementen wordt in de checklist, opgenomen in de OVAM-document 'richtlijn PFAS-onderzoek'(www.ovam.be), weergegeven.
- Alle monsternameslangen van de pompen moeten worden vervangen vóór de monstername.
- Andere monstername-apparatuur en -benodigdheden mogen enkel gebruikt worden indien aangetoond is dat ze geen PFAS boven de LOQ uitlogen in het waterstaal.
- Elk rechtstreeks contact met het monster moet worden vermeden, dit houdt ook rechtstreeks contact van het monster met de handschoenen in. Het is bijgevolg noodzakelijk om een gereinigd hulpmiddel te gebruiken om het staal te nemen.
- Reinigen van materiaal:
 - o enkel met water van drinkwaterkwaliteit;
 - o bij de toepassing van reinigingsmiddel mag enkel gebruik gemaakt worden van PFAS-vrije detergents en moet grondig worden nagespoeld. Het gebruik van Deconex is niet toegestaan.
- Het gebruik van koelelementen wordt toegestaan onder de volgende voorwaarden:
 - o de koelelementen vertonen geen lekken;
 - o alleen harde koelelementen worden toegestaan, de flexibele koelelementen niet omdat ze een grotere kans op scheuren hebben.
- Er wordt geen beperking opgelegd in te dragen regen-, veiligheids- en andere kledij indien aan volgende voorwaarden wordt voldaan:
 - o rechtstreeks contact met het staal moet worden vermeden;
 - o afloop van hemelwater via de kledij in het staal moet worden vermeden;
 - o kledij aangewend bij staalname mag niet worden gewassen met wasverzachter.

- Waterstalen voor de analyse van PFAS worden niet gefiltreerd.
- Richtlijnen met betrekking tot conservering en recipiënten zijn opgenomen in de procedure WAC/1/A/010.

6 VELDREGISTRATIES

Bij elke monstername via peilputten worden ter plaatse veldregistraties gemaakt. Dit kan bijvoorbeeld door gebruik te maken van een 'monsternamiformulier'.

Alle uitgevoerde handelingen dienen geregistreerd te worden op het monsternamiformulier. Afwijkingen van de beoogde methode dienen ook steeds geregistreerd en gemotiveerd (reden van afwijkingen) te worden.

De veldregistraties moeten door het uitvoerend laboratorium bewaard worden voor eventuele latere terugkoppeling.

Minimale informatie die op het monsternamiformulier dient vermeld te worden, zijn:

- monsternamieinstantie en identificatie monsternemer
- datum en uur van de monsternamie
- plaats en locatie van de monsternamie + situering van de peilbuis (eventueel een foto of schets)
- eventueel opgemeten GPS-coördinaten van de peilbuis
- filterstelling/plaatsing van de peilbuis (snijdend / niet-snijdend)
- aanwezigheid drijfslag / aanwezigheid zinklaag
- vermelding van het gebruikte vast punt, opmetingen van (grond)waterpeil t.o.v. vast punt en peilbuis karakteristieken
- toegepaste methode voorpompen (low flow of klassiek)
- theoretisch (berekend) en werkelijk volume van het voorgepompte water
- type pomp gebruikt voor voorpompen en monsternamie en ophangdiepte
- tijdsinterval voorpompen (aanvang en einde voorpompen)
- registratie van de opgevolgde veldparameters tijdens de spoeling
- afwijkingen indien slechte toestroming
- meetwaarden van begin-, tussen- en gestabiliseerde eindwaarde(n) van veldparameters
- diepte van de monsternamie t.o.v. vast punt
- tijdsinterval waarover monsternamie uitgevoerd werd (tijdstip aanvang en einde)
- pompdebiet en waterpeil bij monsternamie
- aantal recipiënten die ter analyse gevuld werden en de gegevens die noodzakelijk zijn voor het identificeren van de monsters zoals vermeld op het etiket
- omstandigheden die de monsternamie mogelijk beïnvloed hebben (weer, omgeving, contaminaties,...)
- afwijkingen t.o.v. de procedure en de reden afwijking
- vermelding van eventuele schade aan de peilput (koker, peilbuis, filter, slechte identificatie, slechte toestroming, metingen niet in overeenstemming met het aangeleverde putschema, risico op verontreiniging,...). (Eventueel met foto)

7 RAPPORTERING

Van elke monstername dient een verslag conform WAC/VI/A/004 opgemaakt te worden. Dit monsternameverslag kan ook geïntegreerd worden met analyseverslag. Naast de nodige gegevens cfr. §5 van WAC/VI/A/004, moet het monsternameverslag minimum volgende gegevens bevatten:

- reden monstername (peilbuis rond stortplaats, grondwaterwinning, ...)
- veldgegevens:
 - o beschrijving plaats en locatie van de monstername + situering van de peilbuis
 - o vast punt, opmetingen van (grond)waterpeil t.o.v. vast punt en peilbuis karakteristieken
 - o aanwezigheid drijfslag / aanwezigheid zinkslag (enkel voor peilputten rond stortplaatsen)
 - o toegepaste methode voorpompen (low flow of klassiek) en volume voorgepompt water
 - o toestroming in de peilbuis (goed/slecht, eventuele afwijkingen en/of evenwichtspeil)
 - o meetwaarden van veldparameter(s) (na stabilisatie) en van troebelheid

8 TRANSPORT

De maximale bewaartermijnen van watermonsters conform WAC/I/010 zijn van toepassing vanaf het tijdstip (datum/uur) van de monstername. De monsters dienen dan ook tijdig aan het analyselaboratorium geleverd te worden zodat de houdbaarheid gerespecteerd kan worden. Eventueel moet de monsternemer afspraken maken m.b.t. de levering aan het analyselaboratorium, zodat het laboratorium zich kan houden aan deze houdbaarheidstermijn (bijv. spoedanalyse op voorhand plannen).

Elke blootstelling aan licht en hitte moet te allen tijde vermeden worden. Gekoeld transport van monsters dient gegarandeerd te zijn door gebruik te maken van koelboxen met voldoende koelelementen of een koelinstallatie. Tijdens het transport mag de temperatuur van een monster¹² zeker niet stijgen. Monsters met een hoge temperatuur worden hierbij fysisch gescheiden van koude monsters.

Het is zeker zinvol om via een logger het temperatuursverloop tijdens het transport te registreren.

9 REFERENTIES

- ISO 5667-11, Water quality – Sampling - Part 11 - Guidance on sampling of groundwaters
- CMA/1/A.2, Compendium voor Monsterneming en Analyse (CMA) – Deel 1 Monsterneming – Bodem - Grondwater
- Vlare II Bijlage 5.53.1, Code van goede praktijk voor boringen en voor exploiteren en afsluiten van boorputten voor grondwaterwinning
- WAC/I/A/010, Conservering en behandeling van watermonsters
- WAC/I/A/011, Meting ter plaatse van temperatuur, pH, elektrische geleidbaarheid, opgeloste zuurstof, vrije chloor en gebonden chloor
- WAC/III/A/004, Bepaling van de elektrische geleidbaarheid

¹² Monsters met een temperatuur lager dan 8°C mogen tijdens transport tot maximaal 8°C opwarmen.

- WAC/III/A/005, Bepaling van de pH
- WAC/III/A/008, Bepaling van opgeloste zuurstof
- WAC/III/A/010, Bepaling van de troebelingsgraad

10 BIJLAGEN

BIJLAGE A: SCHEMATISCHE VOORSTELLING PEILBUIZEN EN POMPPUTTEN

BIJLAGE B: MONSTERNAMEMETHODE: LOW FLOW PURGING VS. KLASSIEKE METHODE

BIJLAGE C: KEUZE EN GEBRUIK VAN MONSTERNAME-APPARATUUR

BIJLAGE D: SPECIFICATIES VOOR VERWIJDERING VAN GRONDWATER

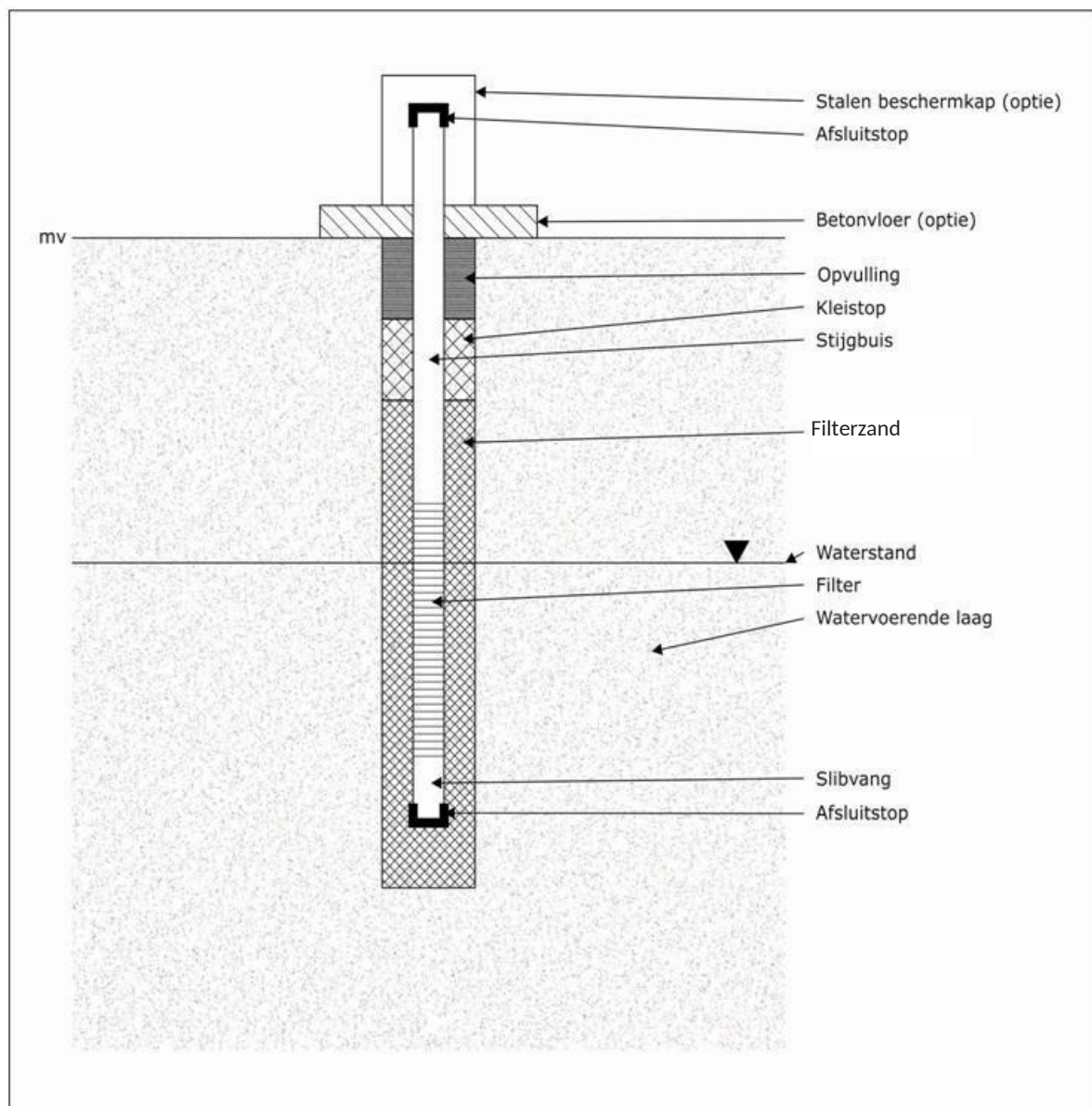
BIJLAGE E: AFWIJKENDE VOORWAARDEN VOOR HET BEMONSTEREN VAN PERCOLAATWATER VIA EEN PEILPUT

BIJLAGE A: SCHEMATISCHE VOORSTELLING PEILBUIZEN

Een tijdelijke peilbuis is een peilbuis die slechts voor een beperkte tijd op het terrein aanwezig is, meestal slechts enkele uren.

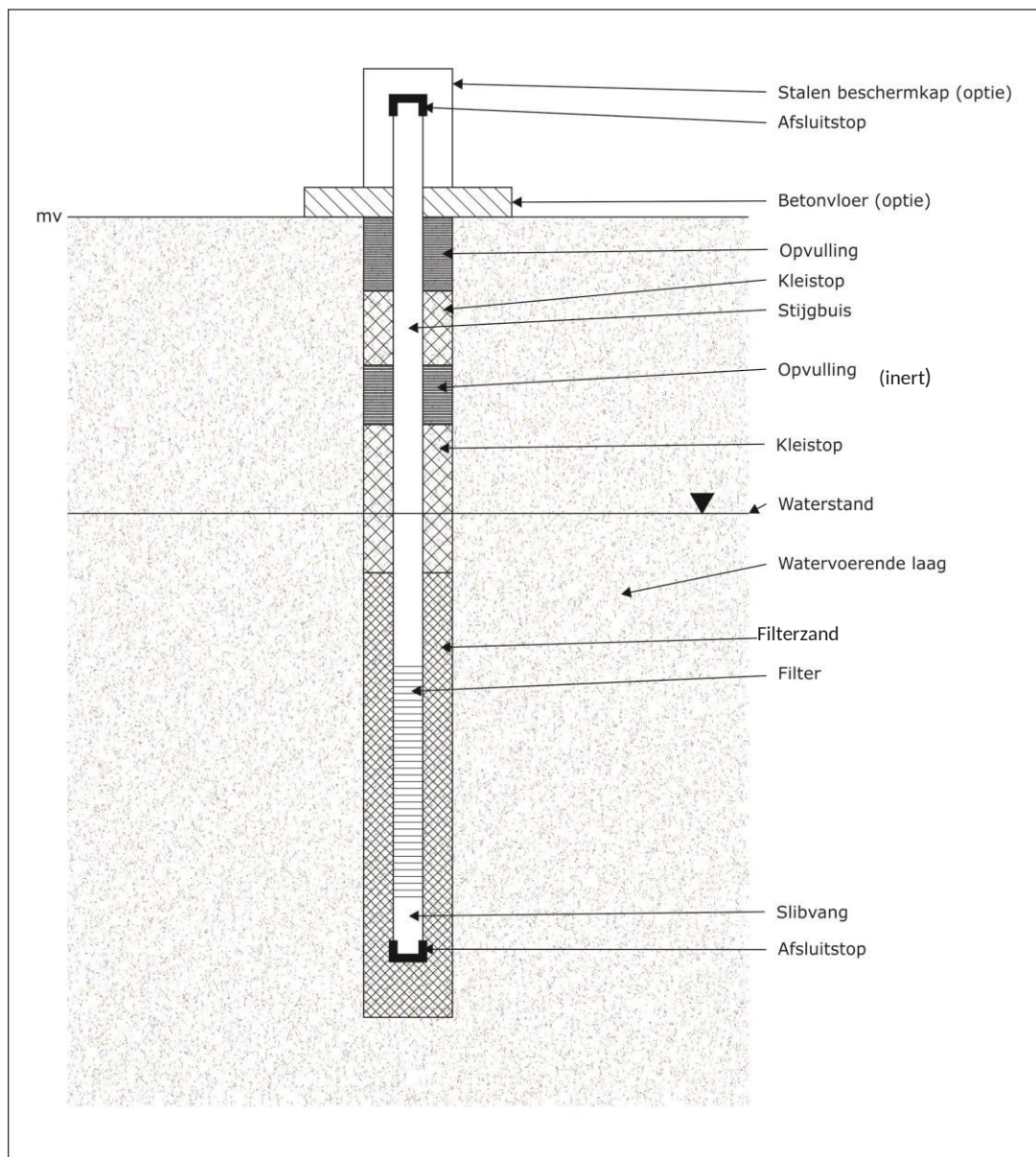
Een permanente peilbuis is een peilbuis die geplaatst wordt met als doel langdurige monitoring mogelijk te maken en dit over langere periodes (tot meerdere jaren).

A.1 Snijdende peilbuis

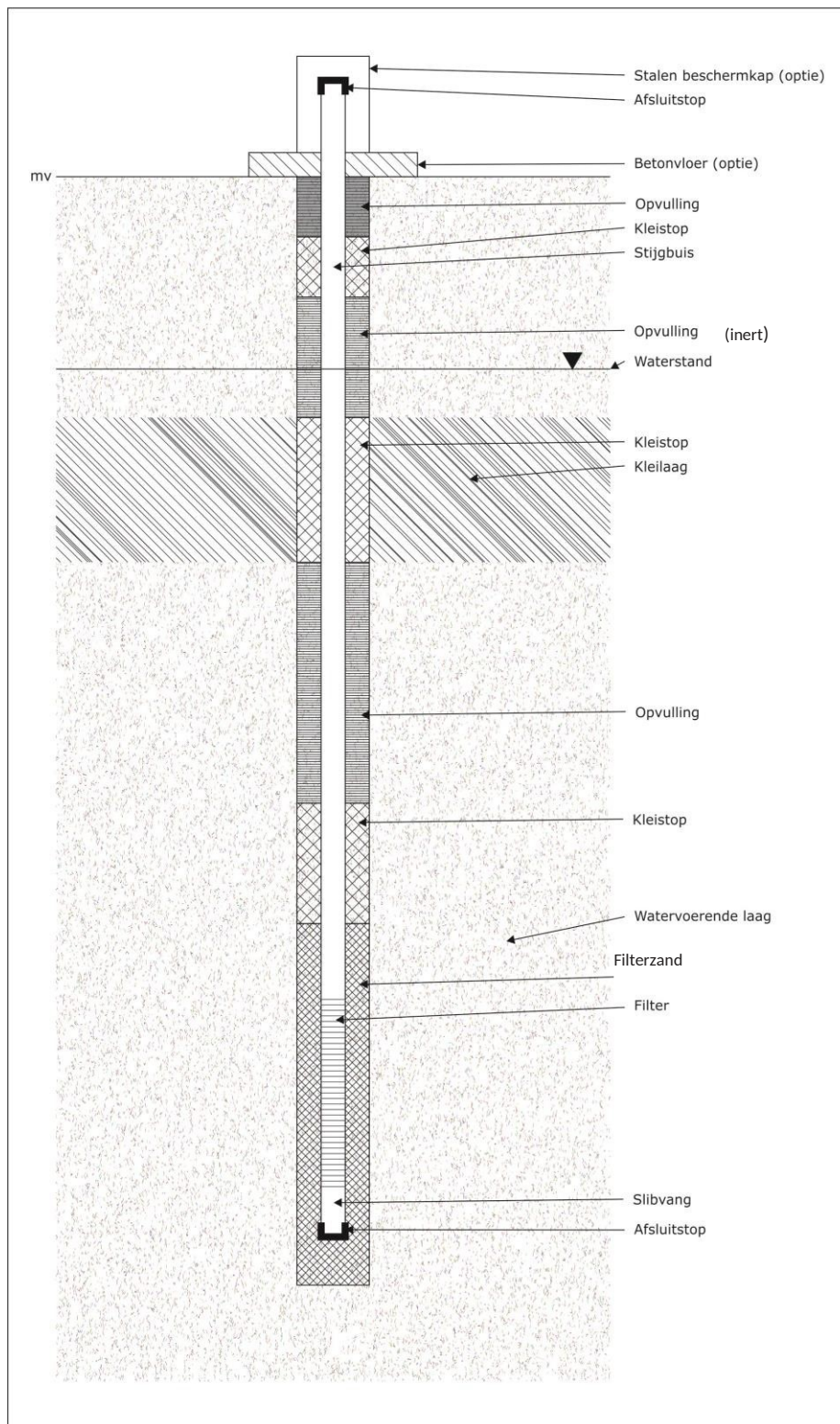


Figuur 1: schematische doorsnede van een boorgat met snijdende peilbuis (bron: CMA/1/A.2)

A.2 Peilbuis met volledig verzadigde filter



Figuur 2: schematische doorsnede van een boorgat met niet-snijdende peilbuis (bron: CMA/1/A.2)

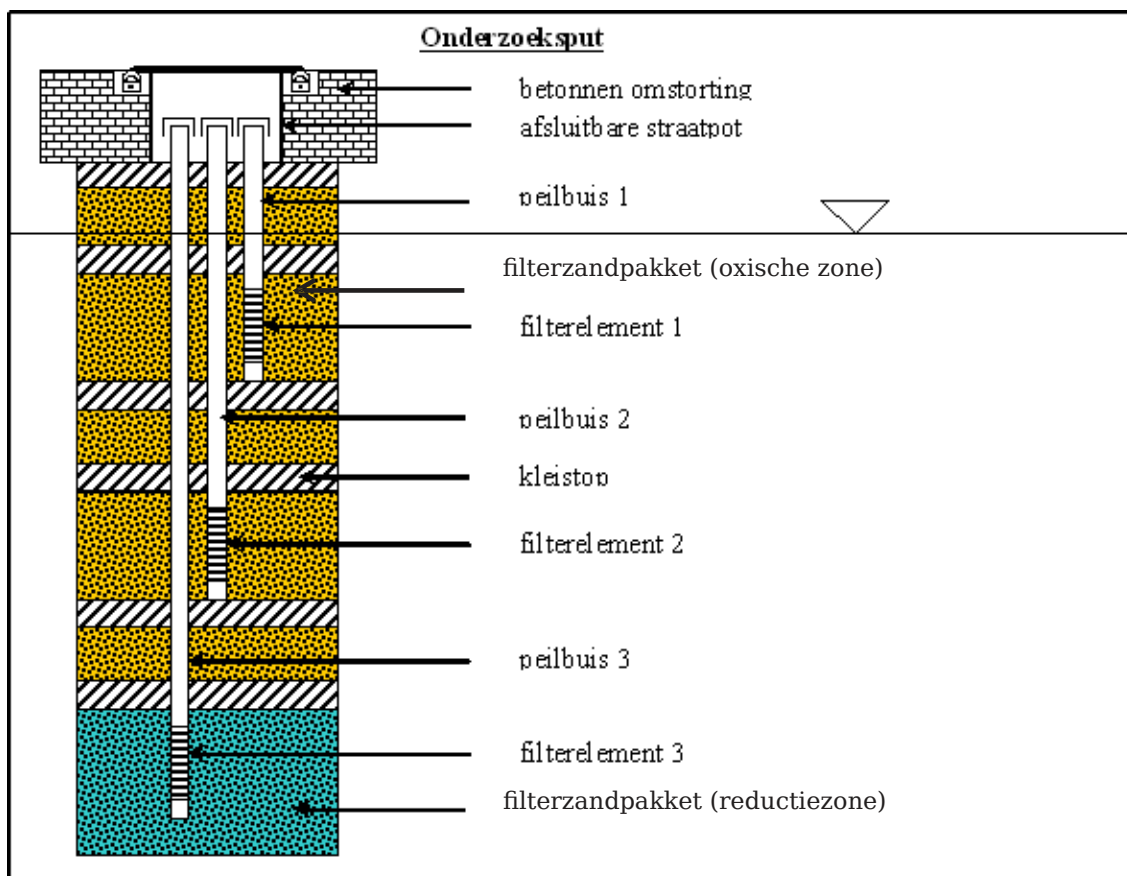


Figuur 3: schematische doorsnede van een boorgat met een peilbuis waarvan de filter is gelegen onder een slecht doorlatende laag (bron: CMA/1/A.2)

A.3 Multilevel peilput

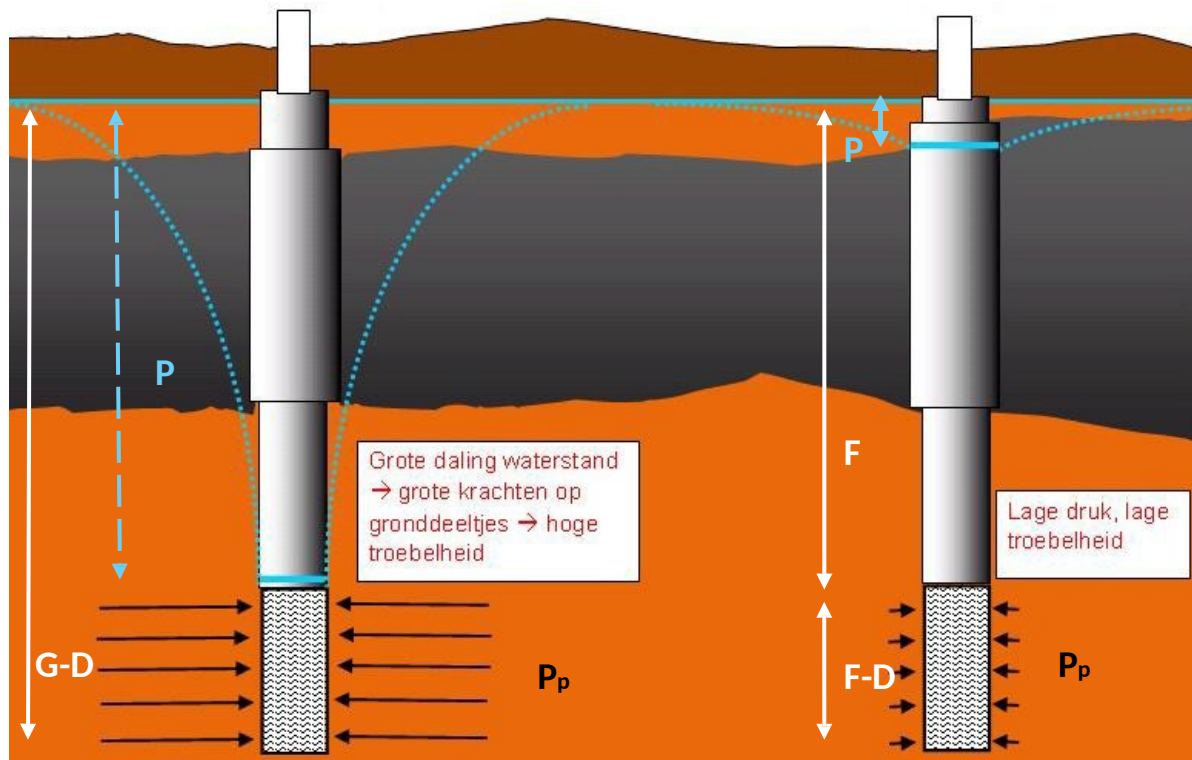


Figuur 4: afgewerkte peilput van het freatisch grondwatermeetnet met drie peilbuizen (bron: DOV).



Figuur 5: multilevel peilput van het freatisch grondwatermeetnet (bron: DOV)

BIJLAGE B: MONSTERNAMEMETHODE: LOW FLOW VS. KLASSIEKE METHODE



Figuur 6: klassieke methode (links) versus low flow purging (rechts)

Met:	G	grondwaterpeil t.o.v. vast
	punt D	diepte peilbuis t.o.v. vast punt
	G-D	lengte waterkolom in de peilbuis
	F-D	lengte waterkolom in het filtergedeelte
	P	daling waterstand bij voerpompen

B.1 Low flow purging of micro purging

- Heeft het voordeel dat er minder volume grondwater moet voorgepompt worden (5 keer filtervolume F-D); Het verminderd volume water dat opgepompt wordt, kan leiden tot een aanzienlijke tijds winst bij lange waterkolommen (20 m en meer) en brede peilbuisdiameters;
- Er treedt slechts een beperkte daling van de grondwaterstand (P) bij lage pompdebieten (< 500 ml/min);
- Daardoor treedt een kleine kracht op het grondwater op en de gronddeeltjes naar het filtergedeelte toe optreedt (P_p) waardoor een lage troebelheid van het opgepompte water bekomen wordt (natuurlijke troebelheid is 0 à 10 NTU: zie Figuur 7). Hierdoor bevat het bemonsterde grondwater minder zwevende of opgeloste delen welke afwijkingen in de geanalyseerde samenstelling/concentratie van het grondwater kunnen veroorzaken bij sorptiegevoelige parameters (bijv. organische stoffen, zware metalen) ;
- Bij een correcte uitvoering van low flow sampling is er geen invloed van het stilstaande water bij de monsternam (hangt van voeding af).



Figuur 7: voorstelling turbiteit

- Door het lage debiet ter hoogte van het filtergedeelte bestaat het gevaar van een selectieve monsternamname, bijv. gerichte stroming uit een deel van de filter, pseudostabiele geleidbaarheid, ...);
- De filtersituatie en ophangdiepte van pomp moet gekend zijn voor een correcte en herhaalbare uitvoering van de monsternamname met low flow principe (vergelijkbaarheid moet worden gegarandeerd);
- Er wordt meestal gewerkt met vacuümtrekkende pompsystemen, welke als nadeel hebben dat ze kunnen leiden tot ontgassing/oxidatie van de watermonsters (mindere nauwkeurigere bepaling van veldparameters O_2 , redoxpotentiaal, maar ook andere redoxgevoelige parameters is mogelijk zoals HCO_3^- , CO_3^{2-} , CO_2 – verstoring van oplosningsevenwicht).

B.2 Klassieke monsternamname (pompen bij hoog debiet)

- Biedt een betere garantie van de verversing van de boorgatzone (d.w.z. het oppompen van in situ grondwater dat rechtstreeks afkomstig is vanuit het onverstoorde sedimentpakket) wanneer deze aangelegd is met een milieuvreemde matrix (bijv. filterzand). Bij lage debieten bestaat anders het risico dat gemodificeerd grondwater opgepompt wordt. Dit is zeker relevant wanneer de karakteristieken van de peilput (nog) niet gekend zijn;
- Er wordt mengwater uit de volledige filterzone onttrokken, zodat het grondwater representatief is voor het beoogde aquifergedeelte (vooral van voordeel voor lange filterelementen van 1m of meer);
- Het pompsysteem wordt ruim voorgespoeld met het te bemonsteren grondwater waardoor contaminaties geminimaliseerd worden;
- De gebruikte pompsystemen (dompelpompen en gesloten pompsystemen) leiden minder tot ontgassing/oxidatie van de watermonsters, en geven dan ook een beter bepaling van veldparameters O_2 , redoxpotentiaal en/of andere redoxgevoelige parameters zoals HCO_3^- , CO_3^{2-} , CO_2 (ook van belang voor oplosningsevenwicht o.a. voor zware metalen) .
- Heeft een hoger voor te pompen volume (5 x waterkolom in peilbuis G-D. Bij een (zware) verontreiniging kunnen de grote hoeveelheden verontreinigd water een probleem vormen op het vlak van afvalverwijdering;
- Er is somseen grote waterdaling (P) door het hoge debiet, waardoor er grote krachten op het grondwater en de gronddeeltjes naar het filtergedeelte toe kunnen ontstaan (Pp);
- Het voorpompen met hogere pompsnelheden / hoger debiet kan enkel worden toegelaten op voorwaarde dat bij het pompen een evenwichtspeil wordt bereikt. Eens het evenwichtspeil bereikt is, kan met dit hoger debiet eveneens een tijdsbesparing bereikt worden in het verversingsproces;
- De kwaliteit van het stilstaande grondwater kan door (langdurige) insluiting gewijzigd zijn of kan zelfs stratificatie vertonen; voorpompen bij hoge debieten biedt zekerheid dat 'oud' (stilstaand) grondwater boven en onder het filtergedeelte wordt verwijderd;

BIJLAGE C: KEUZE EN GEBRUIK VAN MONSTERNAMEAPPARATUUR

C.1 Monstertechnieken door opzuigen van water (zuigpompen)

C.1.1 Slangpompen of peristaltische pomp

De slangpomp kan manueel of elektrisch aangedreven worden. De slang in het pomphuis is in "silicone" uitgevoerd. De zuigzijde van deze slang wordt verbonden met een teflon of PE-slang die in de peilbuis steekt. Door een kortdurende onderdruk is er geen contact met de lucht zodat een goed monster wordt bekomen. Daar de slangen eenvoudig te vervangen zijn is bij correct gebruik de kans voor kruisbesmetting klein. Eén van de meest gebruikte pompen is de elektronische slangpomp met ingebouwde accu en aansluitmogelijkheid voor andere pompjes, een peilsensor en een schakelklok.

Door zijn vrij laag debiet (orde van liters per minuut) is deze pomp echter niet bruikbaar voor het schoonspoelen (na plaatsing) van diepere peilbuizen. Dit is ook het geval indien de opvoerhoogte te groot wordt. De maximale opvoerhoogte voor toepassing van de slangpomp bedraagt theoretisch 10 m, in de praktijk is dit, omwille van de wrijvingsweerstand, meestal beperkt tot 6-8 m.

C.1.2 Bovengrondse centrifugaalpomp (niet toegelaten binnen WAC)

Voor het "schoonpompen" van peilbuizen met grotere diameter kan gebruik worden gemaakt van bovengrondse centrifugaalpompen, aangedreven door een verbrandingsmotor. Deze zijn te verkrijgen voor afpomp uit buizen met diameters vanaf 45 mm. Het debiet is regelbaar.

Het gebruik van centrifugaalpompen is binnen deze WAC niet toegestaan. Door de hoge snelheid van de schoepen treedt er immers een sterke turbulentie op, waardoor monsternamen met betrekkingen tot vluchtige parameters niet aangewezen is. Na verwijdering van de pomp wordt door middel van een ander type pomp de eigenlijke grondwater-bemonstering uitgevoerd.

De maximale opvoerhoogte voor toepassing van de centrifugaalpomp bedraagt theoretisch 10 m, in de praktijk is dit, omwille van de wrijvingsweerstand, meestal beperkt tot 6-8 m.

C.1.3 Vacuümpomp (niet toegelaten binnen WAC)

Het grondwater wordt opgezogen door het creëren van een onderdruk waardoor ontgassing bevordert wordt. Bovendien is er contact met lucht mogelijk zodat oxidatie kan optreden. Aangezien de methode niet geschikt is voor het opmeten van veldparameters - bijgevolg ook niet om voor te pompen - kan het gebruik van deze methode binnen deze WAC niet worden toegestaan.

Het vacuümeffect treedt eveneens op bij alle systemen van bovengrondse pompen, zolang de aanzuigleiding niet volledig gevuld is. Aanzuigleidingen moeten daarom steeds volledig gevuld zijn vooraleer het voorpompen (en meten van veldparameters) en monsternamen aan te vangen.

C.2 Monsternametechnieken door opdrukken van water (perspompen)

C.2.1 Balgpomp (gasdruksysteem)

Afhankelijk van de diepte varieert het maximum debiet tussen 2,5 en 4 l/min. De maximum bemonsteringsdiepte bedraagt ca. 60 m. Tevens kan er inline worden gefiltreerd en kunnen de vereiste metingen worden uitgevoerd. De pomp werkt op luchtdruk, zonder dat de lucht in contact komt met het watermonster. Hiervoor zorgt een teflon balg die in het pomphuis is gemonteerd. Het is een pulserende pomp. In een eerste fase wordt het water aangezogen door samentrekken van de balg. Tijdens de tweede fase wordt het water naar boven geperst door uitzetten van de

balg. De

balgpomp is voorzien van de nodige terugslagkleppen zodanig dat er geen terugstroming kan ontstaan.

Er dient echter opgelet te worden voor kruisbesmetting daar men steeds met dezelfde slangen werkt. Aangezien bepaalde delen van het (moeilijk reinigbare) pomphuis in aanraking komen met het grondwater uit verschillende peilbuizen kan kruiscontaminatie optreden. Het gebruik van dit type pomp is niet toegestaan voor de monstername zelf. Deze pomp wordt doorgaans wel gebruikt voor het schoonpompen na peilbuisplaatsing.

C.2.2 Dubbele kleppomp

De dubbele kleppomp is een pneumatisch aangedreven pomp die gebruikt kan worden bij lage tot middelmatige debieten, en afhankelijk van het type, op aanzienlijke diepte kan gebruikt worden (150 m). Ten opzichte van de balgpomp biedt dit type pomp het voordeel dat hogere debieten bereikt kunnen worden en dat er geen vervanging van balg nodig is.

C.2.3 Kogelkleppompen (pulsknikkerpomp)

Deze pomp is een combinatie van een stijve slang die onderaan voorzien is van terugslagklep. Aan de slang wordt een snelle verticale op- en neerbeweging gegeven (manueel of mechanisch). De kogelkleppomp is verkrijgbaar in verschillende diameters en is vervaardigd uit roestvrij staal. Zij worden aan een darm in de peilbuis neergelaten en door een pulsende beweging wordt het grondwater langs de buis naar boven gedrukt.

Deze pompjes zijn geschikt voor zowel schoonpompen na peilbuisplaatsing als voor voerpompen en monstername. Toepassing van machinaal aangedreven kogelkleppompjes is geschikt bij diepe grondwaterbemonstering. Een veldtest heeft echter aangetoond dat de trillingen troebelheid van het opgepompte grondwater kunnen veroorzaken (bron VMM).

C.2.4 Dompelpomp (onderwater centrifugaalpomp)

De dompelpomp of impellerpomp is een centrifugaalpomp die onder water gebruikt wordt; Deze pomp is meestal vervaardigd uit roestvrij staal en teflon. Dit type pomp is omwille van de volgende karakteristieken zeer goed geschikt voor zowel schoonpompen als grondwatermonstername uit diepe peilbuizen:

- het debiet is fijn regelbaar;
- het onttrekkingsdebiet wordt gekenmerkt door een groot bereik: zowel lage als hoge onttrekkingsdebieten kunnen worden ingesteld;
- omwille van specifieke interne opbouw veroorzaakt de dompelpomp weinig turbulentie, in tegenstelling tot de bovengrondse centrifugaalpomp;
- zuigt geen lucht aan;
- grondwater wordt onderaan de pomp aangezogen.

De diameter van de peilbuis die kan bemonsterd worden is afhankelijk van het type dompelpomp. MP1 pompen zijn bijvoorbeeld enkel toepasbaar voor peilbuizen of pompputten met een interne diameter van minimaal 50 mm.

Daar de pomp in het grondwater wordt gehangen dient voldoende aandacht te worden besteed aan het optreden van kruiscontaminatie. Deze pomp en opvoerslang moet daarom na elk gebruik gespoeld worden met zuiver water van drinkwaterkwaliteit⁵. Aan het einde van elke monsternamedag dient bovendien een reiniging met warm water en detergent te worden uitgevoerd (gevolgd door uitvoerig spoelen). Het regelmatig spoelen kan de levensduur van de pomp ook aanzienlijk verlengen. De opvoerslangen worden vervangen indien deze visueel

verontreiniging (aanslag) vertonen, maar minimaal éénmaal per jaar. Indien de pomp in aanraking is geweest met puur product moet deze grondig gereinigd worden, alvorens verder toe te passen bij schoonspoelen en/of voerpompen en monsternamen.

C.2.5 12V dompelpompjes (DC-pompjes)

De 12V dompelpompjes zijn een goedkopere uitvoering met laag vermogen (5 tot 10 m drukhoogte) van de onderwater centrifugaalpomp. Ze zijn vervaardigd uit een niet-inerte kunststof, en daarom bedoeld voor éénmalig gebruik voor de monsternamen. Ze zijn aan elkaar te koppelen tot een totale opvoerhoogte tot ca. 36 m wordt bereikt. Door het redelijk debiet dat zij halen zijn ze echter goed geschikt om peilbuizen schoon te pompen na plaatsing. Indien éénmalig gebruikt, kunnen zij toegepast worden voor het voerpompen en monsternamen van grondwater, zoals beschreven in deze WAC.

Meestal worden DC-pompjes gebruikt in combinatie met de elektronische peristaltische pomp. Uitzonderlijk kan meermalig gebruik worden toestaan bij achtergrondbepaling en indien het niveau van de verontreiniging gekend is (voorwaarde geen organische verontreiniging).

C.3 Andere monsternamemethoden

C.3.1 Kogelklepmonsternemer of bailer

Dit is geen echte pomp maar een soort bailer uit teflon of roestvrij staal die onderaan afgesloten is met een balklep. Bovenaan is een koord bevestigd, waarmee de bailer omlaag wordt gebracht in de peilbuis. Wanneer men het apparaat laat zakken, stroomt het grondwater vertraagd via de balklep en de bovenopening door de buis van de bailer. Wanneer men het apparaat stilhoudt of optrekt, sluit de balklep en wordt het grondwater ingesloten.

Deze methode laat toe om beperkte volumes monster te nemen.

De kogelklepmonsternemer mag niet gebruikt worden wanneer vluchtige bestanddelen moeten geanalyseerd worden.

C.3.2 Vloeistoflagemonsternemer

Dit is geen pomp, maar een open teflon buis die aan de onderzijde kan afgesloten worden. Dit afsluiten gebeurt door een afsluitsysteem aan de onderkant van de buis dat bediend wordt door een stang of een kabel. Via dit systeem is het mogelijk om op gewenste dieptes een monster te nemen. Deze methode is binnen deze WAC enkel geschikt voor de monsternamen van drijf- en zinklagen.

BIJLAGE D: SPECIFICATIES VOOR VERWIJDERING VAN OPGEPOMPT GRONDWATER

Het oordeelkundig afvoeren van opgepompt grondwater behoort tot de verantwoordelijkheden van het erkend laboratorium dat de monsternamen uitvoert. Het lozen van opgepompt grondwater in peilbuizen/pompputten is, ongeacht de verontreinigingstoestand, niet toegestaan.

Lozing in riool of op onverhard terrein

Lozing in de riool of op onverhard terrein is enkel toegestaan indien aan onderstaande voorwaarden is voldaan:

- afwezigheid van organoleptische waarnemingen die op de mogelijke aanwezigheid van GWV kunnen wijzen (zoals kleur, geur, sterk verhoogde EC, afwijkende pH-waarden, verhoogde PID-metingen);
- afwezigheid puur product / film op waterspiegel;
- analytische gegevens uit voorgaande onderzoeken hebben geen sterk verhoogde concentraties aangetoond;
- het rioleringssysteem, waarop de lozing plaatsvindt, heeft voldoende berging en afvoercapaciteit om het geloosde grondwater te kunnen verwerken zonder overlast te veroorzaken;
- bij gescheiden rioolstelsel is lozing in de afvoer van hemelwater enkel toegestaan indien voldaan is aan de vereisten voor lozing in oppervlaktewater.

Lozing in oppervlaktewater

Voor lozing in oppervlaktewater dient voldaan te zijn aan de voorwaarden opgesomd in bovenstaande paragraaf. Tevens dient de algemene waterkwaliteit te voldoen aan de lokale lozingsnormen voor oppervlaktewater.

Lozing in waterzuiveringsinstallatie (WZI)

Indien op de site, waar grondwater bemonsterd wordt, een waterzuiveringsinstallatie aanwezig is, kan opgepompt grondwater in deze WZI worden geloosd op voorwaarde dat:

- de eigenaar, gebruiker, exploitant van het terrein hiermee instemt;
- de samenstelling en de grootte-orde van de concentraties van het grondwater gekend zijn;
- de technische specificaties van de WZI gekend zijn;
- er geen VOCl's worden geloosd in een koolwaterstofscheider (KWS);
- het rioleringssysteem, waarop de lozing plaatsvindt, voldoende berging en afvoercapaciteit heeft om het geloosde grondwater te kunnen verwerken zonder overlast te veroorzaken;
- de WZI, waarop de lozing plaatsvindt, voldoende berging en afvoercapaciteit heeft om het geloosde grondwater te kunnen verwerken.

Afvoer in vaten voor verwerking volgens de gangbare regelgeving

Puur product en zeer sterk verontreinigd grondwater (i.e. op basis van gekende concentraties uit voorgaande onderzoeken of op basis van zintuiglijke/organoleptische waarnemingen) dienen steeds te worden opgevangen in vaten en vervolgens afgevoerd te worden naar een erkend verwerker.

BIJLAGE E: AFWIJKENDE VOORWAARDEN VOOR HET BEMONSTEREN VAN PERCOLAATWATER VIA EEN PEILPUT

Omwillen van de soms extreme omstandigheden (pH, geleidbaarheid, temperatuur, vervuiling) is het nodig om een aantal voorwaarden van de algemene procedure (WAC/1/A/005) te vereenvoudigen om monsternamen van percolaatwater via een peilbuis /-put mogelijk te maken.

Peilbuizen op stortplaatsen hebben dikwijls een grotere diameter zodat het totaal volume in de buis groter is, het water is meestal vervuild zodat het oppompen en verwijderen van het water niet eenvoudig is. Meer nog dan bij andere peilputten wordt aangeraden om “low-flow” te bemonsteren.

Voor het gebruikte materiaal is het belangrijk te beseffen dat het contaminatierisico voor volgende monsternamen veel groter zijn dan in een klassieke situatie en alle pompen die ondergedompeld worden in het percolaatwater kunnen best vermeden worden. Meer nog dan in andere situaties is het materiaal dat in contact gekomen is met het percolaatwater niet herbruikbaar of moet grondig gereinigd worden.

Welke pompen zijn wel toepasbaar:

- Slangenpomp of peristaltische pomp
- Kogelkleppomp
- 12V dompelpompjes (eenmalig gebruik!)

Omdat een stabiele waarde voor pH, geleidbaarheid of temperatuur in realiteit niet of zelden haalbaar is wordt bij deze monsternamen geen stabiliteit gemeten (steeds vermelden op monsternamenslag met motivatie).

Er moet wel een minimumvolume voorgespoeld worden en dit is afhankelijk van de diameter van peilbuis (zie tabel 1).

Tabel 2: Minimum aantal liter voorgepompt bij percolaatwater

Diameter peilbuis in mm	Aantal liter voorgepompt
< 30 mm	2.5 l
>30 - <50 mm	5 l
>50 mm	10l

Dit minimumvolume moet steeds gerapporteerd worden samen met organoleptische waarnemingen. Indien dit volume niet kan gehaald worden (bijv. door verstopte filter) moet dit ook vermeld worden als afwijking van de methode.

De rest van de voorwaarden van WAC /1/A/005 zijn wel van toepassing.

Het bemonsterde percolaatwater wordt verder behandeld als afvalwater.

Voor bepaalde (opgeloste) parameters in afval- of percolaatwater dienen de watermonsters ter plaatse gefiltreerd te worden; raadpleeg hiervoor CMA/1/A/010.

Monstername van bemalingswater

Inhoud

1	Toepassingsgebied	3
2	Definities	3
3	Apparatuur en benodigdheden	3
3.1	<i>Algemeen</i>	3
3.2	<i>Monstername kraan/uitloop (pakket W1.1.1)</i>	4
3.3	<i>Monstername via schepmonster (pakket W1.2)</i>	4
3.4	<i>Monstername via peilbuis (pakket W1.4.1)</i>	4
4	Richtlijnen bij de monstername van bemalingswater	4
4.1	<i>Algemeen monstername en analyse</i>	4
4.2	<i>Monsternamestrategie – keuze monsternametechniek</i>	4
5	Monstername	7
5.1	<i>Monstername na opstart van de bemalingsinstallatie</i>	7
5.1.1	<i>Monsternamepunt: eisen voor een ogenblikkelijk monster</i>	7
5.1.2	<i>Uitvoering ogenblikkelijke monstername via kraan/uitloop</i>	7
5.1.3	<i>Uitvoering ogenblikkelijke monstername via schepmonster</i>	9
5.2	<i>Monstername voor opstart van de bemalingsinstallatie</i>	10
5.2.1	<i>Monsternamepunt: eisen peilput</i>	10
5.2.2	<i>Uitvoering monstername van een bestaande of nieuwe peilput</i>	11
5.3	<i>Vulvolgorde recipiënten</i>	13
5.4	<i>Conservering</i>	13
5.5	<i>Filtraties ter plaatse</i>	13
5.6	<i>Richtlijnen m.b.t. specifieke analyseparameters</i>	14
5.6.1	<i>Metalen: totaal en opgelost</i>	14
5.6.2	<i>PFAS</i>	14
5.7	<i>Metingen ter plaatse</i>	14
5.8	<i>Transport</i>	14
5.9	<i>Analyse van bemalingswater</i>	15
6	Veldregistraties	15
7	Rapportering	15
8	Referenties	16

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de monsternamen van bemalingswater van werkende bemalingsinstallaties tijdens het bemalen, alsook van bemalingsinstallaties die nog opgestart moeten worden, ten behoeve van (fysico-)chemische analyses in het laboratorium.

Deze methode is niet toepasbaar voor de monsternamen van grondwater ander dan bemalingswater en van percolaatwater (stortplaatsen) via peilputten; hiervoor wordt verwezen naar WAC/1/A/005. Deze methode is niet toepasbaar voor de monsternamen van grondwater in het kader van het Bodemdecreet (CMA/1/A.2).

2 DEFINITIES

De definities, zoals vermeld in Vlarem II¹, zijn van toepassing.

3 APPARATUUR EN BENODIGDHEDEN

3.1 ALGEMEEN

- 3.1.1. Maatbeker(s) met gietskuit en handvat voor homogenisatie²
- 3.1.2. Emmer² voor het opvangen van het verzamelmonster
- 3.1.3. Beker/recipient voor het meten van de temperatuur bij de monsternamen
- 3.1.4. Voldoende plastic en/of glazen monsterrecipienten voor de te analyseren parameters (voorgeconserveerd, indien van toepassing), voor (fysico-)chemische parameters. De richtlijnen m.b.t. het minimale volume water, de nodige conserveermiddelen en te gebruiken recipienten (bijv. plastic, glas, ...) per parameter(groep) conform WAC/I/A/010 moeten gerespecteerd worden.
- 3.1.5. Absorberend papier
- 3.1.6. Draagbare digitale thermometer of thermokoppel afleesbaar tot op 0,1°C conform WAC/III/A/003.
- 3.1.7. Draagbare (veld)meters voor metingen ter plaatse van pH en geleidbaarheid conform WAC/1/A011.

Indien andere veldparameters dan pH/EC/T worden gevraagd in de analyse van het bemalingswater, worden de overeenkomstige veldmeters conform WAC/1/A/011 voorzien.
- 3.1.8. Wegwerpspuiten en 0,45 µm spuitfilters (enkel voor opgeloste parameters)
- 3.1.9. Timer /klok / stopwatch
- 3.1.10. Monsternemings- of veldformulier (kan ook digitaal)
- 3.1.11. Fototoestel (facultatief)
- 3.1.12. Koelboxen met voldoende diepgevroren koelelementen of koelinstallatie om gekoeld transport van monsters te garanderen (5.8)

¹ <https://navigator.emis.vito.be/detail?wold=7916&woLang=nl>

² voor elke monsternamen een proper exemplaar voorzien.

3.2 MONSTERNAME KRAAN/UITLOOP (PAKKET W1.1.1)

3.2.1. Emmer(s) voor het opvangen van spoelwater (indien van toepassing, verschillend van 3.1.1)

3.3 MONSTERNAME VIA SCHEPMONSTER (PAKKET W1.2)

3.3.1. Scheppot of maatbeker met handvat voor monstername (verschillend van 3.1.1)

3.3.2. (Telescopische) schepstok met houder en passende (maat)beker/recipient

3.3.3. Monsterkooi met passende recipient² en touw (facultatief, in sommige monsternamesituaties alternatief voor 3.3.1/3.3.2; evenwaardige toestellen ook toegelaten)

3.4 MONSTERNAME VIA PEILBUIS (PAKKET W1.4.1)

Zie WAC/1/A/005 en §5.2.2

4 RICHTLIJNEN BIJ DE MONSTERNAME VAN BEMALINGSWATER

4.1 ALGEMEEN MONSTERNAME EN ANALYSE

Om de kwaliteit van het bemalingswater na te gaan, moet het bemonsterd, voorbehandeld en geanalyseerd worden met de technieken van afvalwater en conform het Compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC).

De verschilpunten met de monstername en/of analyse als grondwater, of met de uitvoering ervan conform het Compendium voor monsterneming en analyses van afvalstoffen en bodem (CMA), kunnen significante verschillen in de analyseresultaten veroorzaken ten opzichte van deze bemonsterd en geanalyseerd als afvalwater. Deze verschilpunten zijn oa. terug te vinden in (niet-limitatief): het al dan niet toepassen van een filtratie ter plaatse, het toepassen van een directe of indirecte monstername aan de kraan, keuze tussen klassieke monstername van peilputten of low flow monstername, de destructie van de watermonsters, decanteren, het gebruik of uitsluiten van bepaalde pompsystemen bij de monstername,...

Analyseresultaten die *niet* via de technieken voor afvalwater conform het WAC werden bemonsterd en geanalyseerd, zijn bijgevolg niet bruikbaar om de kwaliteit van het bemalingswater te bepalen.

4.2 MONSTERNAMESTRATEGIE – KEUZE MONSTERNAMETECHNIEK

De keuze van de monsternamestrategie bij een bemaling kan bepalend zijn voor de analyseresultaten van het bemalingswater. Met het oog op een zo goed mogelijke representativiteit van het bemonsterde water ten opzichte van het opgepompte water, moeten een aantal aspecten, de status en/of type van de bemalingsinstallatie vooraf in overweging genomen worden om tot de correcte strategie voor monstername te komen.

De te overwegen stappen zijn schematisch voorgesteld in Figuur 1.

Er wordt een onderscheid gemaakt tussen bemalingsinstallaties die reeds in werking zijn (§5.1) en bemalingsinstallaties die nog opgestart (§5.2) moeten worden.

Elke afwijking van de voorkeursmethode voor monsternamen moet gemotiveerd én gerapporteerd worden in het monsternamEVERSLAG.

- i. De monsternamen van een werkende bemalingsinstallatie wordt bij voorkeur via een **ogenblikkelijke monsternamen aan kraan of uitloop** (§5.1.1, §5.1.2) uitgevoerd, tenzij:

- er geen mogelijkheid is tot monsternamen aan een (geïnstalleerde monsternamen)kraan of vrije uitloop.

In dat geval wordt er gekeken of het bemalingswater mogelijk opgevangen wordt in een opvangbak of (ondergrondse) put na het geheel van de bemalingsinstallatie (inclusief beluchtings- en/of bezinkingsbak) en wordt er een **ogenblikkelijke monsternamen via schepmonster** (§5.1.1, §5.1.3) uitgevoerd.

- een retourbemaling die hoofdzakelijk onbelucht uitgevoerd wordt, en waarbij er géén speciale (onbeluchte) monsternamenvoorziening (kraan) voorzien is; een (belucht) schepmonster is in dat geval niet wenselijk.

De monsternamen (§5.2.2) kan enkel in dit laatste geval via een **representatieve** (§5.2.1.1), **gekende** (§5.2.1.2) en conforme (§5.2.1.3) **peilput** uitgevoerd te worden.

- ii. Omdat de bemalingsinstallatie in principe pas in gebruik genomen mag worden als de analyseresultaten van het te bemalen water beschikbaar zijn, wordt een bemaling of een bemalingsinstallatie die opgestart moet worden (en nog niet in werking is) bemonsterd hetzij (geen voorkeursvolgorde):

- via een **ogenblikkelijke monsternamen aan een kraan/uitloop van de bemalingsinstallatie** (§5.1.1, §5.1.2), na schoonpompen van de installatie.

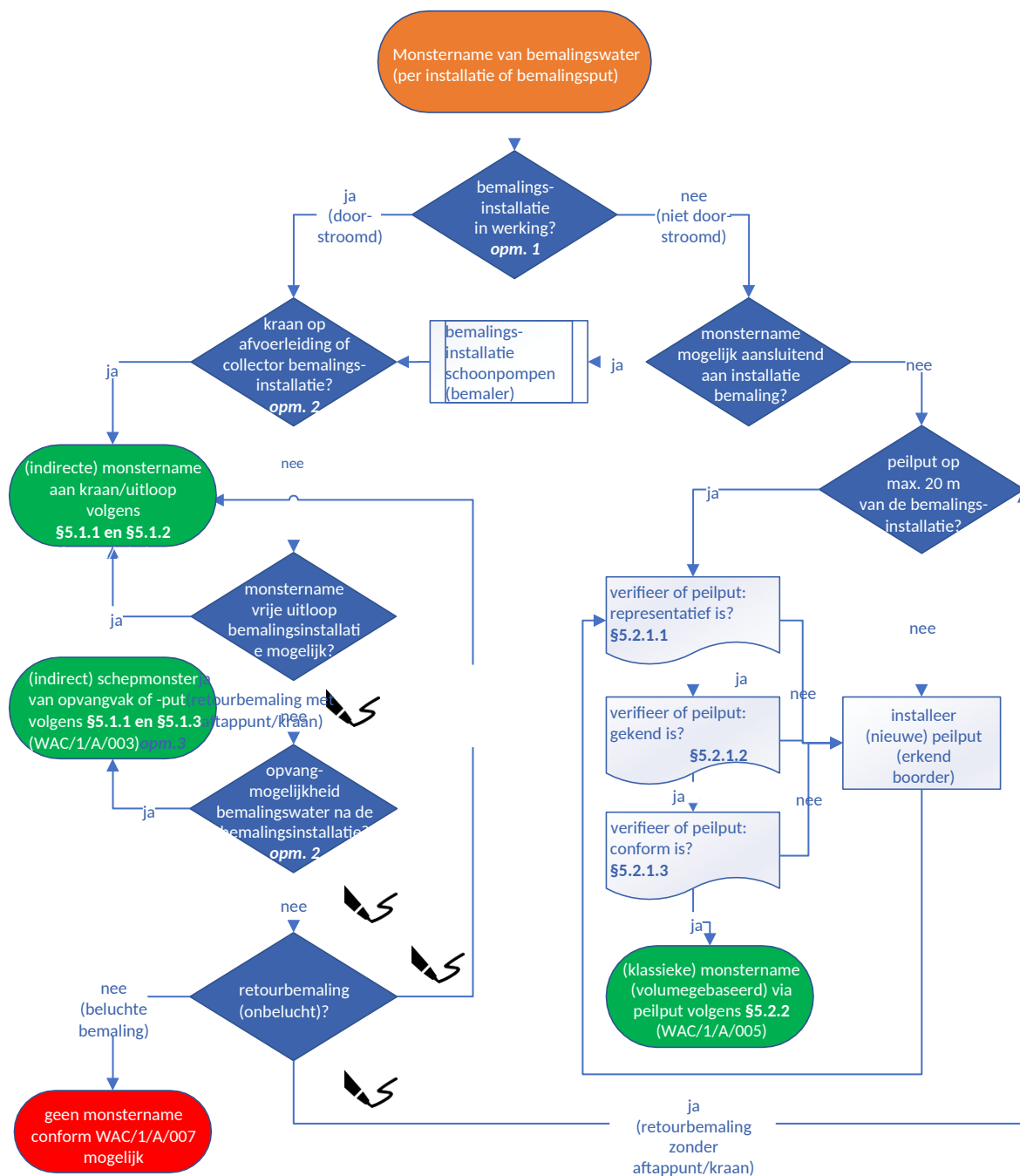
Dit schoonpompen wordt door de bemaler uitgevoerd bij de installatie van de bemaling. De ogenblikkelijke monsternamen kan dan aansluitend aan het schoonpompen uitgevoerd worden; de bemalingsinstallatie wordt nadien stilgelegd in afwachting van de analyseresultaten.

- via **monsternamen van een representatieve peilput** (§5.2.2) binnen de contour van de ingedeelde inrichting activiteit.

Dit kan een nieuw geboorde of een bestaande peilput zijn.

Een belangrijke voorwaarde bij deze monsternamen is dat de bemonsterde peilput representatief (§5.2.1.1), gekend (§5.2.1.2) en conform (§5.2.1.3) moet zijn om de monsternamen kwalitatief te kunnen uitvoeren.

- iii. Een (werkende) bemalingsinstallatie die niet-continu of intermitterend werkt (bijv. met sondesturingen) kan eventueel geforceerd opgestart worden ten behoeve van de monsternamen en wordt dan bemonsterd cf. i. Het (geforceerd) herstarten valt onder de verantwoordelijkheid van de opdrachtgever. Het moet weloverwogen toegepast worden om ongewenste gevolgen zoals zettingsvoorkomingen, verzilting, aantrekken of verschuiving van pollutanten,...) te vermijden



Opm. 1: een (werkende) bemalingsinstallatie die niet-continu of intermitterend werkt (bv. met sondesturingen) kan eventueel geforceerd herstart worden. Het (geforceerd) herstarten valt onder de verantwoordelijkheid van de opdrachtgever, en moet weloverwogen toegepast worden om ongewenste gevolgen zoals zettingsvoorkomingen, verzilting, aantrekken of verschuiving van polluenten, te vermijden.

Opm. 2: bemalingsinstallatie met inbegrip van een eventuele zuiveringsinstallatie, zandfilter, beluchtings- of bezinkingsbak; de monstername mag niet in één van deze onderdelen plaatsvinden. Een ontluchtingssysteem, onder de vorm van een bak of snelontluchter, is géén aftappunt dat geschikt is voor monstername.

Opm. 3: indien het (onbeluchte) aftappunt deel uitmaakt van de bemalingsinstallatie moet dit als afwijking gerapporteerd en gemotiveerd worden onbelucht aftappunt bij retourbemaling



keuze motiveren en rapporteren

Figuur 1: stroomschema monstername bemalingswater

5 MONSTERNAME

Elke afwijking met betrekking tot het monsternamepunt of met de uitvoering van de monstername moet gemotiveerd én gerapporteerd worden in het monsternameverslag.

5.1 MONSTERNAME NA OPSTART VAN DE BEMALINGSINSTALLATIE

5.1.1 MONSTERNAMEPUNT: EISEN VOOR EEN OGENBLIKKELIJK MONSTER

- Het ogenblikkelijke monster van bemalingswater is bij voorkeur een mengstaal van de verschillende strengen die tegelijkertijd op een werkende bemalingspomp zijn aangesloten (bv. kraan op collectorleiding).
- De vrije uitloop van een bemalingsinstallatie kan aanzien worden als een (semi) continu lopende kraan.
- De ogenblikkelijke monstername moet steeds uitgevoerd worden **op een punt waar het bemalingswater de bemalingsinstallatie verlaat**.
De bemalingsinstallatie wordt hierbij aanzien als het geheel van pompen, filters en leidingencircuit bij het oppompen van grondwater, met inbegrip van een eventuele zuiveringsinstallatie, zandfilter, beluchtings- of bezinkingsbak en debietmeter.
Er mag in géén geval een (schep- of kraan-)monster genomen uit één van de individuele onderdelen van een bemalingsinstallatie. Een ontluchtingssysteem, onder de vorm van een bak of snelontluchter, is géén aftappunt dat geschikt is voor monstername.

5.1.2 UITVOERING OGENBLIKKELIJKE MONSTERNAME VIA KRAAN/UITLOOP³

- 1) Documenteer en beschrijf de bemonsteringssituatie (werkende, pas geïnstalleerde, discontinu werkende bemalingsinstallatie, ...) en monsternamepunt (kraan, uitloop, ...) eenduidig op het monsternemingsformulier.
- 2) Verwijder eventuele opzet- en/of koppelstukken die manueel of eenvoudig losgemaakt kunnen worden (in overleg met de bemaler/verantwoordelijke).
- 3) Verwijder zichtbaar aanklevend vuil aan de kraan met bevochtigd (water) absorberend papier (eenmalig te gebruiken). Maak ook de binnenkant van de kraan schoon met bevochtigd papier.
- 4) Bij een *bemalingsinstallatie die niet in werking is, of niet-continue/intermitterend doorstroomd wordt op het moment van de monstername*, kan – in overleg met, en onder verantwoordelijkheid van, de opdrachtgever - de bemaling geforceerd herstart worden. Het (geforceerd) herstarten moet weloverwogen toegepast worden om ongewenste gevolgen zoals zettingen, verzilting, aantrekken of verschuiving van polluenten, ...) te voorkomen. Na de herstart van de pompen wordt de bemalingsinstallatie eerst minstens 5 min. doorstroomd vooraleer verdergegaan wordt naar de volgende stap.
Noteer de het tijdstip en -duur van herstart/doorstroming.

³ cf. [WAC/I/A/002](#) "Ogenblikkelijke monstername (aan kraan) van water"

- 5) Open de kraan en spoel de kraan waaraan het monster wordt genomen: laat de kraan **min. 5 min doorstromen** OF **spoel minstens 3x het dood volume van de monsternamekraan inclusief de koppelingen en mogelijke monsternameleiding** tot aan de leiding met het opgepompte bemalingswater.

Noteer de tijdsduur of volume (bij benadering) van het spoelwater.

Overleg met de opdrachtgever wat de mogelijkheden zijn om het spoelwater af te voeren.

Het spoelen van de monsternamekraan is niet van toepassing indien de vrije uitloop wordt bemonsterd.

- 6) Vul een (propere) verzamelemmer met bemalingswater aan kraan of uitloop tot ongeveer 1.5 x het volume van alle te vullen flessen/monsterrecipiënten voor deze monstername.
- 7) Vul aansluitend een bijkomende beker of recipiënt voor het meten van de temperatuur bij de monsterneming met behulp van een digitale thermometer.
Noteer deze (monstername)temperatuur.
- 8) Sluit de kraan (niet van toepassing bij een vrije uitloop).
Monteer eventueel verwijderde opzet- en/of koppelstukken.
- 9) Vul de flessen/recipiënten voor de verschillende analyses af vanuit de verzamelemmer ('indirecte monstername') en rekening houdend met de vulvolgorde (§0), filtraties ter plaatse (§5.5) en/of specifieke richtlijnen (§5.6):
- Homogeniseer het bemalingswater met een maatbeker met handvat door zachte horizontale en verticale zwenkende bewegingen in de verzamelemmer te maken. Vermijd hierbij luchtinslag.
 - Vul de eerste fles/recipiënt met de maatbeker, en doe dit naast de verzamelemmer. De maatbeker mag bij het vullen de hals van de monsterrecipiënt niet raken (risico op contaminatie vanuit het conserveermiddel dat mogelijk aan de hals kleeft).
Vanuit elke gevulde (maat)beker wordt slechts één monsterrecipiënt gevuld.
 - Gooi het restant in maatbeker weg na het vullen van de recipiënt.
 - Elke keer dat opnieuw geschept wordt met de maatbeker, moet de hele inhoud van de verzamelemmer weer gehomogeniseerd worden.
 - Herhaal voor volgende fles(sen)/recipiënt(en). Tussen het vullen wordt de (maat)beker in de verzamelemmer gelegd; in geen geval mag deze (maat)beker tussendoor op de grond of omgeving geplaatst worden.

5.1.3 UITVOERING OGENBLIKKELIJKE MONSTERNAME VIA SCHEPMONSTER⁴

- 1) Documenteer en beschrijf de bemonsteringssituatie (werkende, pas geïnstalleerde, discontinu werkende bemalingsinstallatie, ...) en monsternamepunt (type, grootte opvangende, ...) eenduidig op het monsternemingsformulier.
- 2) Maak het wateroppervlak ter hoogte van het monsternamepunt vrij van drijvende delen, verontreinigingen, etc. met behulp van andere apparatuur dan voor de monstername wordt gebruikt.
- 3) Breng de (maat)beker of schepstok met beker/recipient op het monsternamepunt ondersteboven (of gesloten) tot onder het wateroppervlak. Vermijd verstoring van bodem of invloeden van (vervuilde) bodem en wanden.
Draai (of open onder water) om onder water en laat vullen. Giet de inhoud over in een (propere) verzamelemmer.
- 4) Herhaal punt 3) op hetzelfde monsternamepunt en diepte totdat de verzamelemmer gevuld is met ongeveer 1.5 x het volume van alle te vullen monsterrecipiënten voor deze monstername.
- 5) Vul aansluitend een bijkomende beker of recipient voor het meten van de temperatuur bij de monsterneming met behulp van een digitale thermometer.
Noteer deze (monstername)temperatuur.
- 6) Vul de flessen/recipiënten voor de verschillende analyses af vanuit de verzamelemmer ('indirecte monstername') en rekening houdend met de vulvolgorde (§0), filtraties ter plaatse (§5.5) en/of specifieke richtlijnen (§5.6):
 - Homogeniseer het bemalingswater met een maatbeker met handvat door zachte horizontale en verticale zwenkende bewegingen in de verzamelemmer te maken. Vermijd hierbij luchtinslag.
 - Vul de eerste fles/recipient met de maatbeker, en doe dit naast de verzamelemmer. De maatbeker mag bij het vullen de hals van de monsterrecipient niet raken (risico op contaminatie vanuit het conserveermiddel dat mogelijk aan de hals kleeft). Vanuit elke gevulde (maat)beker wordt slechts één monsterrecipient gevuld.
 - Gooi het restant in maatbeker weg na het vullen van de recipient.
 - Elke keer dat opnieuw geschept wordt met de maatbeker, moet de hele inhoud van de verzamelemmer weer gehomogeniseerd worden.
 - Herhaal voor volgende fles(sen)/recipient(en). Tussen het vullen wordt de (maat)beker in de verzamelemmer gelegd; in geen geval mag deze (maat)beker tussendoor op de grond of omgeving geplaatst worden.

⁴ cf. [WAC/1/A/003](#) "Ogenblikkelijke monstername (schepmonster) van water"

5.2 MONSTERNAME VOOR OPSTART VAN DE BEMALINGSINSTALLATIE

5.2.1 MONSTERNAMEPUNT: EISEN PEILPUT

5.2.1.1 REPRESENTATIEF

De locatie en de aansluiting van de peilput met de te analyseren watervoerende laag moet gegarandeerd worden en moet - op volgende punten - overeenstemmen met het bemalingsconcept⁵ ervan:

- filterstelling op vergelijkbare diepte als waar bemalingswater onttrokken wordt (informatie m.b.t. bemalingsdiepte wordt opgevraagd bij de opdrachtgever);
- gelegen op maximum 20 m van de bemalingsinstallatie.

De ligging en de filterstelling van de peilput moeten in het betreffende het monstername - en/of analyserapport gerapporteerd zijn (zie §5.2.1.2).

Indien niet aan deze voorwaarde is voldaan, dient de peilput als “niet-representatief” aangeduid te worden, en is het analyseresultaat bekomen via monstername aan deze peilput niet bruikbaar om de kwaliteit van het bemalingswater te bepalen.

5.2.1.2 GEKEND

Volgende boorgegevens moeten van een nieuw geplaatste peilput bij een te plaatsen/op te starten bemalingsinstallatie moeten minimaal beschikbaar zijn:

- erkende boorfirma;
- (unieke) identificatie peilput;
- putdiameter;
- exacte locatie (GPS-coördinaten, laser, of door inmeting ten opzichte van een of meerdere vaste referentiepunten door middel van een meetwiel of lintmeter);
- diepte en lengte van het filterinterval.

Bij het gebruik van analyseresultaten van een monstername van een bestaande peilput binnen de contour van de ingedeelde inrichting of activiteit moeten de monsternamegegevens conform §5 van WAC/VI/A/004 (rapportering monstername- en analysegegevens) en conform §7 van WAC/1/A/005 (monstername peilbuizen) beschikbaar zijn.

Bij ontbreken van één of meerdere van deze gegevens wordt de peilput aangeduid als “niet-gekend” en is het analyseresultaat bekomen via monstername aan deze peilput niet bruikbaar om de kwaliteit van het bemalingswater te bepalen.

5.2.1.3 CONFORM

Bij de monstername van een bestaande peilput moet deze intact én in goede staat zijn. Een goede visuele inspectie voor aanvang van de monstername is hierbij belangrijk.

Er kan bijvoorbeeld gelet worden op volgende aspecten die de kwaliteit van het bemonsterde grondwater mogelijk kunnen beïnvloeden:

- is de afwerking nog intact en nog water- en vloeistofdicht? Is er instroom van verontreinigd water of andere vloeistoffen, verontreinigingen of materie mogelijk? Indien er sprake is van instroom, dan is de peilbuis niet geschikt voor monstername.

⁵ [Richtlijnen bemalingen ter bescherming van het milieu](#), Vlaamse Milieumaatschappij, 2021

- is er sprake van verzanding? Klopt de diepte met het putschema? Bij afwijkingen moet de peilput geregeeneerd worden of moet met de opdrachtgever afgesproken worden of de plaatsing van nieuwe peilbuis opportuun is.
- is de toestroming nog voldoende: als er geen 5x (putvolume) binnen het uur ververs kan worden, is peilbuis niet bruikbaar en moet met de opdrachtgever afgesproken worden of de plaatsing van nieuwe peilbuis opportuun is.

De binnendiameter van de peilput moet het mogelijk maken om een pompsysteem van min. 56 mm diameter voor de monsternamen te kunnen toepassen.

Bij twijfel over de staat en de bruikbaarheid van de peilput, wordt de peilput aangeduid als “niet-conform”, en is het analyseresultaat bekomen via monsternamen aan deze peilput niet bruikbaar om de kwaliteit van het bemalingswater te bepalen.

5.2.2 UITVOERING MONSTERNAMEN VAN EEN BESTAANDE OF NIEUWE PEILPUT

De monsternamen zoals beschreven in [WAC/1/A/005](#) ('monsternamen van water via een peilput') is van toepassing mits volgende aanpassingen:

- 1) Apparatuur en benodigdheden:
 - punt 3.2.3, 3.2.10: niet van toepassing voor bemalingswater
 - punt 3.2.1; §4.5, Tabel 1: **slangenpomp/peristaltische pomp, kogelkleppomp en 12 V dompelpompjes niet toegelaten voor bemalingswater; minimaal onderwatercentrifugaalpomp voor bemalingswater**
- 2) Monsternamemethode
 - §4.4, §5.1.1.1, §5.1.2.2, bijlage B: **“low flow purging/sampling” of “micro-purging” niet van toepassing voor bemalingswater; bemalingswater wordt steeds via de “klassieke” methode bemonsterd**
- 3) Verversen peilput/voorpompen/spoelen
 - §5.1.1.1, §5.1.2.2, §5.3: “low flow” niet van toepassing voor bemalingswater
 - §5.1.1.2, §5.1.2.3: **spoeling enkel volumegebaseerd; stabilisatie van veldparameters hoeft niet bereikt te worden**
- 4) Opvolgen veldparameters, metingen ter plaatse
 - §5.1.3: **opvolging van grondwaterniveau en veldparameters pH en geleidbaarheid wel van toepassing voor bemalingswater**
 - §5.1.4, §5.1.1.2: **stabilisatie veldparameters niet van toepassing voor bemalingswater**
 - §5.2: **meten troebelheid niet van toepassing voor bemalingswater**
- 5) Monsternamen peilput
 - §5.4.2: **vermijden van luchtinslag is belangrijk bij onbeluchte bemalingen**
 - §5.4.4: **bemalingswater wordt niet gefiltreerd**, behalve indien er opgeloste parameters (bv. opgeloste metalen) moeten geanalyseerd worden
 - Bijlage E: percolaatwater niet van toepassing
- 6) Veldregistratie, rapportering
 - resultaat van eisen aan de bemonsterde peilput: gekend (§5.2.1.2), conform (§5.2.1.3)

- §6, §7: eindwaarden veldparameters worden gerapporteerd i.p.v. gestabiliseerde eindwaarden

5.3 VULVOLGORDE RECIPIËNTEN

Bij het vullen van de monsterrecipiënten dienen onderstaande instructies gerespecteerd te worden:

1. Recipiënt(en) bestemd voor vluchtige organische solventen⁶
2. Recipiënten waarbij zuurstofinbreng de bepaling kan storen (bijv. BZV)
3. Recipiënt(en) zonder conserveringsreagentia
4. Recipiënt(en) met conserveringsreagentia: ook hier dient rekening gehouden te worden met een volgorde van vullen om contaminatie van een volgend monster via de conserveringsreagentia te vermijden.

Voorbeeld: en recipiënt bestemd voor nitraatbepaling mag niet volgen op het vullen van een recipiënt met salpeterzuur. Een recipiënt metaalanalyse mag niet gevuld worden na het vullen van een recipiënt met kaliumdichromaat wegens risico op Cr-contaminatie.

5. Recipiënten voor metingen ter plaatse

Er worden bij voorkeur afzonderlijke meetrecipiënten voor geleidbaarheid en pH gevuld om contaminatie via de elektrode te vermijden (externe contaminatie of via lek van de pH-elektrode). Maar indien gewenst kan het recipiënt waarin geleidbaarheid gemeten is, daarna gebruikt worden voor pH meting.

Alle handelingen bij het vullen moeten zo snel mogelijk na elkaar volgen. Het is zinvol om de vulvolgorde van monsterrecipiënten kenbaar te maken op de recipiënten (via nummering of codering). Eventuele richtlijnen qua vulling (bijv. geen vrije ruimte) in WAC/I/A/010 moeten gerespecteerd worden.

Afwijkingen m.b.t. vulvolgorde zijn enkel toegelaten mits duidelijke motivatie ervan in het monsternemingsverslag.

5.4 CONSERVERING

Voeg de nodige bewaar- of conserveermiddelen toe per (fyscio-) chemische analyseparameter conform WAC/I/A/010.

De conservering gebeurt steeds ter plaatse.

Maak bij voorkeur gebruik van voorgeconserveerde monsterrecipiënten; toevoeging van conserveermiddelen op het veld is omslachtig, moet vaak in moeilijke (weers)omstandigheden uitgevoerd worden en is bijgevolg vaak minder nauwkeurig.

De aard en de houdbaarheid van de conserveermiddelen moet vermeld worden op de monsterrecipiënt en moet gerespecteerd worden.

5.5 FILTRATIES TER PLAATSE

Het bemalingswater wordt **niet gefiltreerd**, behalve indien er opgeloste parameter(s) (bv. opgeloste metalen) geanalyseerd moeten worden.

⁶ Bij de monsternamen via een peilput is het niet noodzakelijk om de recipiënt bestemd voor vluchtige organische solventen als eerste te bemonsteren.

Enkel voor opgeloste parameters wordt een filtratie ter plaatse uitgevoerd over een 0.45µm spuitfilter. De filtratie wordt vlak voor het vullen van de monsterrecipiënt voor de opgeloste parameter in kwestie, uitgevoerd rekening houdend met de volgorde vermeld in §5.3. Het filtraat wordt onmiddellijk overgebracht in de monsterrecipiënt in kwestie.

5.6 RICHTLIJNEN M.B.T. SPECIFIEKE ANALYSEPARAMETERS

5.6.1 METALEN: TOTAAL EN OPGELOST

Voor metalen wordt zowel een recipiënt voor (totaal) metalen afgevuld (i.e. niet-gefiltreerd bemalingswater) als een recipiënt voor opgeloste metalen (i.e. gefiltreerd bemalingswater, zie §5.5).

5.6.2 PFAS

Wanneer monsternames gebeuren in het kader van PFAS-analyses, moet rekening worden gehouden met volgende richtlijnen:

- In de mate van het mogelijke moet nagegaan worden (bij de leverancier/aan de hand van analyses) of het materiaal gebruikt bij de monstername voor analyse op PFAS, PFAS kan bevatten. Er mag enkel monstername-apparatuur worden gebruikt waarvan aangetoond is dat ze geen PFAS boven de LOQ uitlogen in het waterstaal.
- Elk rechtstreeks contact met het monster moet worden vermeden, dit houdt ook rechtstreeks contact van het monster met de handschoenen in. Het is bijgevolg noodzakelijk om een gereinigd hulpmiddel te gebruiken om het staal te nemen.
- Reinigen van materiaal:
 - o enkel met water van drinkwaterkwaliteit;
 - o bij de toepassing van reinigingsmiddel mag enkel gebruik gemaakt worden van PFAS-vrije detergents en moet grondig worden nagespoeld.
- Het gebruik van koelelementen wordt toegestaan onder de volgende voorwaarden:
 - o de koelelementen vertonen geen lekken;
 - o alleen harde koelelementen worden toegestaan, de flexibele koelelementen niet omdat ze een grotere kans op scheuren hebben.
- Er wordt geen beperking opgelegd in te dragen regen-, veiligheids- en andere kledij indien aan volgende voorwaarden wordt voldaan:
 - o rechtstreeks contact met het staal moet worden vermeden;
 - o afloop van hemelwater via de kledij in het staal moet worden vermeden;
 - o kledij aangewend bij staalname mag niet worden gewassen met wasverzachter.

5.7 METINGEN TER PLAATSE

Voor eventuele metingen ter plaatse wordt verwezen naar WAC/I/A/011.

5.8 TRANSPORT

De maximale bewaartermijnen van watermonsters conform WAC/I/010 zijn van toepassing vanaf het tijdstip (datum/uur) van de monsterneming. De monsters dienen dan ook tijdig aan het analyselaboratorium geleverd te worden zodat de houdbaarheid gerespecteerd kan worden.

Elke blootstelling aan licht en hitte moet te allen tijde vermeden worden.

Gekoeld transport van monsters dient gegarandeerd te zijn door gebruik te maken van koelboxen met voldoende koelementen of een koelinstallatie. Tijdens het transport mag de temperatuur van een monster⁷ zeker niet stijgen.

Monsters met een hoge temperatuur worden hierbij fysisch gescheiden van koele monsters.

Het is zeker zinvol om via een logger het temperatuursverloop tijdens het transport te registreren.

5.9 ANALYSE VAN BEMALINGSWATER

De verschillende recipiënten met het bemonsterde bemalingswater moeten **als afvalwater geanalyseerd** worden door het erkend analyselaboratorium.

Voor de metalen worden zowel de totaal als de opgeloste metalen (§5.6.1) geanalyseerd.

6 VELDREGISTRATIES

Bij elke monsterneming van water worden ter plaatse veldregistraties gemaakt. Dit kan bijvoorbeeld door gebruik te maken van een 'monsternemingsformulier'.

Volgende gegevens dienen minimaal geregistreerd te worden bij de monsterneming:

- identificatie van de monsternemer
- datum en uur van de monsterneming
- plaats en locatie van de monsterneming
- eenduidige omschrijving of aanduiding (evt. via schets, plan, foto...) van het monsternamepunt
- monsternametechniek, inclusief de uitgevoerde handelingen en toegepast materieel
- temperatuur van het bemalingswater bij de monsterneming
- aantal recipiënten gevuld en de gegevens die noodzakelijk zijn voor het identificeren van de monsters
- eventuele afwijkingen t.o.v. te volgen monsternamestrategie (§4.2), -punt (§5.1.15.2.1) of -techniek (§5.1.2, §5.1.3, §5.2.2) en motivatie van de afwijking
- eventuele opmerkingen en/of (omgevings-)omstandigheden die de monsterneming kunnen beïnvloeden
- eventuele resultaten van metingen ter plaatse

7 RAPPORTERING

Van elke monsterneming dient een monsternemingsverslag conform WAC/VI/A/004 opgemaakt te worden. Dit verslag kan ook geïntegreerd worden met het analyseverslag.

Naast de nodige gegevens cfr. §5 van WAC/VI/A/004, moet het monsternemingsverslag moet minimum volgende gegevens bevatten:

⁷ Monsters met een temperatuur lager dan 8°C mogen tijdens transport tot maximaal 8°C opwarmen.

- beschrijving plaats en locatie van de monsterneming, monsternamepunt, incl. motivatie bij afwijkingen
- toegepaste monsternametechniek, incl. motivatie bij afwijkingen

8 REFERENTIES

- WAC/I/A/002, Ogenblikkelijke monstername (aan kraan) van water
- WAC/I/A/003, Ogenblikkelijke monstername (schepmonster) van water
- WAC/I/A/005, Monstername van water via een peilput
- WAC/I/A/010, Conservering en behandeling van watermonsters
- WAC/I/A/011, Meting ter plaatse van temperatuur, pH, elektrische geleidbaarheid, opgeloste zuurstof, vrije chloor en gebonden chloor
- [Richtlijnen bemalingen ter bescherming van het milieu](#), Vlaamse Milieumaatschappij, 2021

Conservering en behandeling van watermonsters

INHOUD

1	DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED	3
2	TERMEN EN DEFINITIES	3
3	PRINCIPE	3
4	VOORBEHANDELING	13
4.1	<i>Homogenisatie</i>	13
4.2	<i>Deelbemonstering</i>	14
5	REFERENTIES	14

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de voorbehandeling van de monsters voor de bepaling van het gehalte aan anorganische, organische, bacteriologische en ecotoxicologische parameters in water.

Het doel van de in deze methode beschreven voorbehandeling is de bereiding van een analysemonster dat een gehalte aan verontreinigingen bevat dat gelijk is aan het gemiddelde verontreinigingsgehalte van het gehele oorspronkelijke monster.

Bovendien worden in deze procedure voorwaarden gegeven in verband met het nodige monstervolume, het materiaal van het recipiënt waarin het monster wordt genomen en bewaard en eventuele voorzorgen die moeten genomen worden om watermonsters te bewaren met het oog op het uitvoeren van analyses.

2 TERMEN EN DEFINITIES

Monster: hoeveelheid water dat als geheel aan het laboratorium wordt aangeleverd. Elk monster is apart verpakt.

Opmerking: het is mogelijk dat een aantal recipiënten tot één monster behoren.

Deelmonster: een gedeelte van het monster aangeboden aan het laboratorium waarvan wordt verondersteld dat het representatief is voor het gehele monster.

Monstervoorbehandeling: het geheel van handelingen, zoals mengen enz., die de eigenlijke analyseprocedure voorafgaat.

Analysemonster: de hoeveelheid van een deelmonster dat voor een welbepaalde analyse wordt opgewerkt.

3 PRINCIPE

~~De monsters worden na ontvangst koel bewaard bij 1 à 5°C en bij voorkeur zo snel mogelijk voor analyse in behandeling genomen waarbij de maximale bewaartermijnen, vermeld in deze procedure, gerespecteerd worden.~~

De bewaartermijn van monsters is specifiek voor de te analyseren parameter. Monsters mogen niet langer bewaard worden dan de maximale bewaartermijn vermeld in deze procedure. In het laboratorium worden de monsters koel bewaard bij 3 ± 2 °C. Monsters voor elementanalyse die met zuur zijn geconserveerd, kunnen op kamertemperatuur worden bewaard. Ingevroren monsters worden bewaard bij een temperatuur $< -18^{\circ}\text{C}$, tenzij anders aangegeven.

Voor de conservering van de monsters bestemd voor **chemische analyses** wordt ISO 5667-3 gevolgd tenzij anders vermeld. Het toevoegen van conserveringsmiddelen gebeurt onmiddellijk (binnen 10 minuten) bij monsternamen, tenzij technisch niet haalbaar. De toevoeging gebeurt dan zo snel mogelijk en ter plaatse. Toevoeging van additionele conserveringsmiddelen is toegestaan. Conserveringsmethoden vermeld in de binnen WAC toegestane normmethoden (bv. Europese, Internationale) voor de bepaling van specifieke parameter(s) zijn eveneens toepasbaar.

In Tabel 1: *Water - organische parameters* en Tabel 2: *Water - anorganische parameters* zijn per parameter voor het matrixtype water de minimale hoeveelheden monster nodig voor de uitvoering van een analyse; het meest geschikte recipiënt; de in acht te nemen voorwaarden bij de deelbemonstering; de maximum bewaartermijnen en eventuele voorzorgen te nemen tijdens de bewaring, weergegeven. Wanneer meerdere parameters op eenzelfde monster (met dezelfde conservering) worden bepaald, is minstens de hoeveelheid van de parameter met de hoogste minimale hoeveelheid van toepassing en moet de som van de nodige analyseporties kleiner zijn dan deze hoeveelheid.

Opmerking: De aangeleverde hoeveelheid monster dient vastgelegd te worden in overleg met het laboratorium, maar mag nooit lager zijn dan de minimale hoeveelheid vermeld in onderstaande tabel.

Voor de conservering van de monsters bestemd voor **bacteriologische analyses** zijn de maximale bewaartermijnen in Tabel 3 van toepassing vanaf het tijdstip (datum/uur) van de monsterneming. De monsters dienen dan ook tijdig aan het analyselaboratorium geleverd te worden zodat de houdbaarheid gerespecteerd kan worden. Voor gegevens betreffende de te bemonsteren volumes en recipiënten wordt verwezen naar Tabel 3: *Water bacteriologische parameters*.

Monsters bestemd voor **ecotoxicologische analyses** worden koel bewaard. De testen worden bij voorkeur binnen 24 u gestart. Voor de houdbaarheidscondities en maximale termijn na staalname wordt verwezen naar Tabel 4: *Water – ecotoxicologische parameters en bioeliminatie*. {} In het testrapport worden in ieder geval duidelijk de data van staalname en start van testuitvoering aangegeven, en elke afwijking qua houdbaarheidstermijn en bewaarconditie zoals benoemd in tabel 4.

Tabel 1: Water - organische parameters

Bepaling van	Minimale hoeveelheid	Materiaal van het recipiënt	Opmerkingen	Bewaringsvoorzorgen en -termijn
Minerale olie ⁽¹⁾	100 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	-aanzuren tot pH ≤ 2 met HCl, H ₂ SO ₄ of HNO ₃ -koel bewaren -1 maand
TCE-extraheerbare stoffen	500 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	-aanzuren tot pH ≤ 2 met HCl, H ₂ SO ₄ of HNO ₃ -koel bewaren -1 maand
Petroleumether extraheerbare stoffen	500 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	-aanzuren tot pH ≤ 2 met HCl, H ₂ SO ₄ of HNO ₃ -koel bewaren -1 maand
Polycyclische aromatische koolwaterstoffen	25 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	-koel en donker bewaren -1 week
Vluchtige organische verbindingen ⁽²⁾⁽⁶⁾	100 ml	donker gekleurd glas met geslepen / conische glazen stop (afdichten)	-monsterfles volledig vullen (geen dampruimte); -deelmonsternamen	koel bewaren en ofwel - 50 mg/l Na ₂ S ₂ O ₃ : 1 week

		met PTFE film) of plastic stop met teflon inlage	dient door analist te gebeuren (rechtstreeks in purgeervial van P&T of in	- 50 g/l ascorbinezuur:

Bepaling van	Minimale hoeveelheid	Materiaal van het recipiënt	Opmerkingen	Bewaringsvoorzorgen en -termijn
			meetvial van headspace); -indien monsterfles voor verschillende parameters, dan is de eerste deelmonsterneming voor oplosmiddelen	2 weken - aanzuren tot pH 1-2 met HCl of H ₂ SO ₄ : 1 week
Matig vluchtige chloorkoolwaterstoffen ⁽³⁾ (9)	25 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	-monsterfles volledig vullen (geen dampruimte) ⁽⁸⁾ -afzonderlijke fles	-koel en donker bewaren -1 maand
Polaire pesticiden (fenoxyazijnzuurderivaten, uronen, organofosforpesticiden en triazines) ⁽⁴⁾⁽⁷⁾	100 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	- drinkwater en afvalwater: bij monsterneming 10 ml 0.01M Na ₂ S ₂ O ₃ of Na ₂ SO ₃ toevoegen per liter water -koel en donker bewaren -OPPs 1 week, -andere 2 weken
Organische screening	100 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	-koel en donker bewaren -1 week
PCDD/F	100 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	1 maand
Fenolische verbindingen	100 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	-aanzuren met HCl, H ₃ PO ₄ of H ₂ SO ₄ tot pH ≤ 4 -koel en donker bewaren -21 dagen
AOF	500 ml	Glas, polypropyleen of hoge dichtheid polyethyleen; dop met PP of HDPE inlage.		geen
EOX, AOX, POX ⁽⁵⁾	500 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	-bij monsterneming: 10 ml 1.5 M Na ₂ SO ₃ toevoegen per

				liter water ; monsterfles volledig vullen -bij ontvangst in labo: aanzuren met 10 ml geconc. HNO_3 per liter water -koel en donker bewaren -2 weken -1 maand (-18°C)

<i>Bepaling van</i>	<i>Minimale hoeveelheid</i>	<i>Materiaal van het recipiënt</i>	<i>Opmerkingen</i>	<i>Bewaringsvoorzorgen en -termijn</i>
Gebromeerde brandvertragers	100 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	-koel en donker (!) bewaren -1 maand
Per- en polyfluor-verbindingen	25 ml	Glas, polypropyleen of hoge dichtheid polyethyleen; dop met PP of HDPE inlage.		-koel bewaren -1 maand
Ftalaten	100 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	-koel en donker bewaren -4 dagen
Kationische surfactanten	25 ml	polypropyleen, polyethyleen of glas	afzonderlijke fles	-koel bewaren -14 dagen mits toevoeging van gelijke hoeveelheid acetonitrile ofwel 10% isopropanol en 1 mM LAS; solvent dient ofwel ten velde ofwel binnen 3 dagen na aankomst in labo toegevoegd te worden aan het volledige staal
Niet-ionogene surfactanten	25 ml	polypropyleen, polyethyleen of glas	afzonderlijke fles	- koel en donker bewaren, - 7 dagen mits toevoegen van gelijke hoeveelheid acetonitrile ofwel 1% van 37% formaldehyde-oplossing ofwel 1% F- solv ofwel 0.1% 2- bromo-2-nitro-1,3-propanediol aan het volledige staal
Formaldehyde	100 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of	- afzonderlijke fles - monsterfles volledig vullen (geen	- koel en donker bewaren

		plastic stop met teflon inlage	dampruimte)	- 4 dagen
Andere organische parameters	100 ml	donker gekleurd glas met geslepen glazen stop of plastic stop met teflon inlage	afzonderlijke fles	- koel en donker bewaren - 1 week

(1) - indien niet aangezuurd wordt, zijn de stalen 4 dagen houdbaar.

- voor grondwateranalyses in het kader van bodemonderzoek (Vlarebo) dient aangezuurd te worden met HCl of H₂SO₄.
- (2) Styreen en MTBE breken af in aanwezigheid van HCl of H₂SO₄ in combinatie met NaCl als uitzoutingsreagens; indien deze componenten bepaald moeten worden dient het staal geconserveerd te worden met ascorbinezuur (50 gram per liter; de pH die aldus bekomen wordt kan hoger liggen dan 1-2). Bij conservering met Na₂S₂O₃ kan afbraak optreden van 2,2-dichloorpropaan en 1,3-dichloorpropeen
- (3) 'Matig vluchtige chloorkoolwaterstoffen' : voor grondwateranalyses in het kader van bodemonderzoek (Vlarebo) is een maximale bewaartermijn van 1 week van toepassing
- (4) 'Organofosforpesticiden' : voor grondwateranalyses in het kader van bodemonderzoek (Vlarebo) dient de pH niet aangepast te worden
- (5) 'EOX/AOX/POX' : tijdens de additie van zuur aan het staal (bij aankomst in het labo) kan gasontwikkeling optreden; om drukopbouw te vermijden wordt aangeraden om de recipiënten pas af te sluiten nadat de gasontwikkeling ophoudt.
Voor AOX bepaling dient een tweede staal aangeleverd te worden met een volume van 100 ml dat niet geconserveerd wordt, ter bepaling van DOC en totaal halogeniden.
Voor POX is aanzuren facultatief; indien niet aangezuurd bedraagt de bewaar termijn 24u.
- (6) 'VOC' : tijdens de additie van zuur aan het staal (bij aankomst in het labo) kan gasontwikkeling optreden; om drukopbouw te vermijden wordt aangeraden om de recipiënten pas af te sluiten nadat de gasontwikkeling ophoudt. Daarbij kunnen vluchtige verbindingen verloren gaan, dit dient vermeld te worden op het analyseverslag
- (7) Carbendazim kan verloren gaan door complexering met koperionen. Dit kan vermeden worden door additie van EDTA aan het staal. Aan 500 ml staal wordt 2 ml toegevoegd van een oplossing die 4,6 mg/ml Na₂EDTA bevat.
- (8) Indien de trichloorbenzenen niet geanalyseerd moeten worden, dient de fles niet volledig gevuld te zijn
- (9) Indien dicofol bepaald moet worden dient het staal op pH 2 gebracht te worden met HCl en de maximale bewaartermijn bedraagt dan 7 dagen

Tabel 2: Water - anorganische parameters

Bepaling van	Minimale volume	Materiaal van het recipiënt	Opmerking	Bewaringsvoorzorgen en -termijn
Alkaliniteit	200 ml (Volledig gevuld om lucht te elimineren)	P of G	Bij voorkeur analyse ter plaatse. Reductie- en oxidatieprocessen tijdens bewaring kunnen het monster veranderen.	- gekoeld ($3 \pm 2^{\circ}\text{C}$), 1 dag
Ammonium stikstof	100 ml	P of G		- onmiddellijk na staalname, 1 dag - in diepvries ($< -18^{\circ}\text{C}$), 1 maand ⁽¹⁰⁾ - aanzuren tot pH 1-2 met H ₂ SO ₄ , gekoeld ($3 \pm 2^{\circ}\text{C}$), 21 dagen
Bezinkbare stoffen	1000 ml	P of G		- onmiddellijk na staalname, 2 dagen
BZV	1000 ml	P of G		- gekoeld ($3 \pm 2^{\circ}\text{C}$) in het donker, 1 dag

	(Volle dig gevuld om			- in diepvries (<-18°C) ⁽⁵⁾ , 1

Bepaling van	Minimale volume	Materiaal van het recipient	Opmerking	Bewaringsvoorzorgen en -termijn
	luchtbellen en zoveel mogelijk te elimineren)			maand ⁽¹⁰⁾
Bromaat	20 ml	P of G	Indien ozon aanwezig, voeg 50 mg ethyleendiamine toe aan 1 l monster onmiddellijk na staalname. ⁽¹²⁾	- gekoeld ($3 \pm 2^{\circ}\text{C}$), 1 maand
Bromide	25 ml	P of G		- gekoeld ($3 \pm 2^{\circ}\text{C}$), 1 maand
Chloor-totaal		P of G	Analyse ter plaatse, binnen 5 min na monsternamen	- 5 min
Chloor-vrije		P of G	Analyse ter plaatse, binnen 5 min na monsternamen	- 5 min
Chloride	25 ml	P of G		- gekoeld ($3 \pm 2^{\circ}\text{C}$), 1 maand - in diepvries ($< -18^{\circ}\text{C}$), 1 maand ⁽¹⁰⁾
Chloraat	25 ml	P of G		- onmiddellijk na staalname, 1 dag - voeg NaOH toe tot pH 10 ± 0.5 , 7 dagen
Chloriet	25 ml	P of G		- onmiddellijk na staalname, 1 dag - voeg NaOH toe tot pH 10 ± 0.5 , 7 dagen (indien geen gebruik van chloordioxide bij de behandeling van water) - bij aanwezigheid van resten chloordioxide: purgeer binnen 1 dag het monster met een inert gas gedurende minstens 5 minuten, analyse binnen 1 dag of voeg NaOH toe tot pH 10 ± 0.5 , 7 dagen
Chroom(VI)	100 ml	P of G	Reductie- en oxidatieprocessen tijdens bewaring kunnen het monster veranderen	- gekoeld ($3 \pm 2^{\circ}\text{C}$), 1 dag
CZV	50 ml	P of G		- aanzuren tot pH 1-2 met H_2SO_4 , 1 maand - in diepvries ($< -18^{\circ}\text{C}$), 1 maand ⁽¹⁰⁾
Cyanide-totaal	25 ml	P of G		- NaOH toevoegen tot pH > 12 , gekoeld ($3 \pm 2^{\circ}\text{C}$) in het donker, 7 dagen

Cyanide-vrij	25 ml	P of G		- NaOH toevoegen tot pH > 12, gekoeld ($3 \pm 2^{\circ}\text{C}$) in het donker, 7 dagen
Droogrest	1000 ml	P of G		- gekoeld ($3 \pm 2^{\circ}\text{C}$), 1 dag

Bepaling van	Minimale volume	Materiaal van het recipient	Opmerking	Bewaringsvoorzorgen en -termijn
Fenolindex	50 ml	G		- aanzuren tot pH < 4 met H ₃ PO ₄ of H ₂ SO ₄ , 21 dagen
Fluoride	100 ml	P (niet PTFE)		- gekoeld (3 ± 2°C), 1 maand - in diepvries (<-18°C), 1 maand ⁽¹⁰⁾
Geleidbaarheid	50 ml (Volledig gevuld om lucht te elimineren)	P of G	Bij voorkeur analyse ter plaatse.	- gekoeld (3 ± 2°C), 1 dag
Kjeldahl stikstof	60 ml	P of G		- aanzuren tot pH 1-2 met H ₂ SO ₄ , gekoeld (3 ± 2°C) in het donker, 1 maand - in diepvries (<-18°C), 1 maand ⁽¹⁰⁾
Kleur	20 ml	P of G	Bij grondwater, rijk aan Fe(II), analyse ter plaatse binnen 5 min na monsternamen	- gekoeld (3 ± 2°C) in het donker, 5 dagen
Kwik	50 ml	P of G		- aanzuren tot pH 1-2 met HNO ₃ of HCl; bij aankomst in labo en binnen 3 dagen na monsternamen stabilisator (1% HCl + 0,009 mM KBrO ₃ of 1% HCl + 2 mg/l Au) toevoegen, 1 maand ⁽⁶⁾ . Bij toepassing van CV-AAS/AFS wordt aan een deelmonster extra BrCl oplossing ⁽¹⁾ toegevoegd. ^(7, 11)
MBAS	100 ml	PP, PE of glas	afzonderlijke fles	- gekoeld (3 ± 2°C), en donker bewaren, 1 dag - 4 dagen mits toevoegen van 1% van 37% formaldehyde-oplossing - in diepvries (<-18°C), 1 maand ⁽¹⁰⁾ na toevoegen van 1% van 37% formaldehyde-oplossing
Metalen	100 ml,		- B en Si: geen conservering noodzakelijk - As, Sb en Sn:	- aanzuren tot pH 1-2 met HNO ₃ , 1 maand (zie ook Hg)

		P of G	aanzuren tot pH 1-2 met HNO_3 of HCl, 1 maand - Ti: aanzuren tot pH 1-2 met HNO_3 of HCl, 1 maand - Na, Mg, K, Ca: bij toepassing IC mag conservering tot pH 3 ± 0.5 met $\text{HNO}_3^{(4)}$ - Totaal P: aanzuren	- Ag: in het labo stabilisatie met HCl - Sb: in het labo optioneel stabilisatie met HCl/HF

Bepaling van	Minimale volume	Materiaal van het recipient	Opmerking	Bewaringsvoorzorgen en -termijn
			tot pH 1-2 met HNO ₃ of H ₂ SO ₄ , 1 maand	
Nitraat	25 ml	P of G		- gekoeld (3 ± 2°C), 1 dag - in diepvries (<- 18°C), 1 maand⁽¹⁰⁾ - aanzuren tot pH 1-2 met HCl, 7 dagen
Nitriet stikstof Totaal geoxideerde stikstof	25 ml	P of G		- gekoeld (3 ± 2°C), 1 dag - in diepvries (<- 18°C), 1 maand⁽¹⁰⁾
Ortho-fosfaat (opgelost)	25 ml	P of G	Filtratie ter plaatse Voor analyse, oxiderende stoffen mogen worden verwijderd door toevoeging van ijzer(II)sulfaat of natriumarseniet	- gekoeld (3 ± 2°C), 1 maand - aanzuren tot pH 1-2 met H₂SO₄, 1 maand - in diepvries (<- 18°C), 1 maand⁽¹⁰⁾
Ortho-fosfaat (totaal)	25 ml	P of G		- gekoeld (3 ± 2°C), 1 dag - aanzuren tot pH 1-2 met H₂SO₄, 1 maand - in diepvries (<- 18°C), 1 maand⁽¹⁰⁾
Opgeloste zuurstof	300 ml (Volledig gevuld om lucht te elimineren)	P of G		- Zuurstof ter plaatse fixeren (cfr ISO 5813), monsters in het donker bewaren, 4 dagen - De electrochemische methode moet ter plaatse worden uitgevoerd.
Oxideerbaarheid	100 ml	P of G	Analyse zo snel mogelijk na staalname	- te velde aanzuren tot pH 1-2 met H₂SO₄, gekoeld (3 ± 2°C) in het donker, 2 dagen - te velde aanzuren tot pH 1-2 met H₂SO₄, in diepvries (<- 18°C), 1 maand⁽¹⁰⁾
Perchloraat	25 ml	P of G		- gekoeld (3 ± 2°C), 1 maand
pH	50 ml (Volledig gevuld om lucht te elimineren)	P of G	Bij voorkeur analyse ter plaatse.	- gekoeld (3 ± 2°C), 1 dag
Silicaat (totaal)	50 ml	P		- gekoeld (3 ± 2°C), 1 maand
Sulfaat	25 ml	P of G		- gekoeld (3 ± 2°C), 1 maand - in diepvries (<-

				18°C), 1 maand ⁽¹⁰⁾
Sulfide	150 ml (Volledig gevuld om lucht te eliminere n)	P	Bij bepaling van opgelost sulfide, filtratie (0.45 µm) te velde en nadien conserveren.	- toevoegen van 2 ml zinkacetaat (10 g/l) (indien nodig NaOH tot pH >9 ⁽²⁾), gekoeld (3 ± 2°C), 7 dagen
Sulfiet	100 ml (Volledig gevuld om	P or G	Ter plaatse fixeren met 1 ml van een 2.5% (massa) EDTA	- gekoeld (3 ± 2°C), 2 dagen

Bepaling van	Minimale volume	Materiaal van het recipiënt	Opmerking	Bewaringsvoorzorgen -termijn
	lucht te elimineren)		oplossing per 100 ml monster	
TOC	20 ml	P of G		- aanzuren tot pH 1-2 met H₂SO₄, H₃PO₄ of HCl, 7 dagen - gekoeld (3 ± 2°C), 7 dagen - in diepvries (<-18°C), 1 maand⁽¹⁰⁾
~~Totaal-anorganisch gebonden-fluoride~~	~~500 ml~~	~~P (niet PTFE)~~		<del> - gekoeld (1 — 5°C), 1 maand - in diepvries (<-18°C), 1 maand⁽¹⁰⁾ </del>
Totale hardheid (met titrimetrie)	100 ml	P of G		- gekoeld (3 ± 2°C), 1 maand
Totale hardheid (met berekeningsmethode)	100 ml	P of G	Mg, Ca: bij toepassing IC mag conservering tot pH 3 ± 0.5 met HNO ₃ ⁽⁴⁾	- aanzuren tot pH 1-2 met HNO ₃ , 1 maand
Totale stikstof	100 ml	P of G		- aanzuren tot pH 1-2 met H₂SO₄⁽⁸⁾ of met HCl (9), 1 maand - in diepvries (<-18°C), 1 maand⁽¹⁰⁾
Troebelingsgraad	100 ml	P of G	Analyse bij voorkeur ter plaatse	- gekoeld (3 ± 2°C) in het donker, 1 dag
Ureum	100 ml	P of G		- conform NEN 6494 - gekoeld (3 ± 2°C), 4 dagen⁽³⁾
Vrij CO ₂	(Volledig gevuld om lucht te elimineren)	P of G	Analyse bij voorkeur ter plaatse	- gekoeld (3 ± 2°C), 1 dag
Zwevende stoffen	1000 ml	P of G		- gekoeld (3 ± 2°C), 2 dagen

P: plastic, G: glas, PP: polypropyleen, PE: polyethyleen

- 0.1 N KBr/KBrO₃ oplossing cfr NBN EN ISO 12846:2012: Los 1.39 g KBrO₃ op in 250 ml water. Los 5.95 g KBr op in 250 ml water. Meng gelijke delen van KBrO₃ oplossing met KBr oplossing. Aan 100 ml monster wordt 2 ml 0.1 N KBr/KBrO₃ oplossing toegevoegd (en eventueel 1 ml HCl). Varianten op de concentratie van de reagentia zijn mogelijk.
Opmerking: indien het monster niet geconserveerd werd met HCl, dient bij toevoeging van KBr/KBrO₃ oplossing eveneens HCl toegevoegd te worden.
Opmerking: De additie van BrCl-oplossing tot 6 dagen na bemonstering wordt enkel in uitzonderlijke gevallen toegestaan.
- Indien voorafgaand aan de bemonstering het recipiënt wordt voorzien van zinkacetaat, dient NaOH pas worden toegevoegd na de bemonstering (vermijden van neerslagvorming).

- 3) Referentie: Kohler P, *Ringversuch für die enzymatische Bestimmung von Harnstoff in badewasser*, Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg., 76, 1985, 470-477.
- 4) Referentie: ISO 14911:1998 Water quality - Determination of dissolved Li^+ , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} and Ba^{2+} using ion chromatography - Method for water and waste water
- 5) Rekening houdend met de bijkomende opmerkingen beschreven in § 10 van ISO 5815-1.
- 6) Eén recipiënt voor de bepaling van de elementen én Hg

- 7) Referentie: ISO 12846 en VITO rapport 2011/MANT/R/021 (C. Vanhoof, K. Duyssens en K. Tirez, *Monsterconservering en -bewaring van anorganische parameters*).
- 8) Bij toepassing van de oxidatieve digestiemethode cfr WAC/III/D/032 mag worden aangezuurd tot pH < 4.
- 9) Bij toepassing van de chemiluminiscentie methode cfr WAC/III/D/033
- 10) Het invriezen van monsters ter conservering is een uitzonderingsmaatregel. In praktijk wordt als vuistregel gehanteerd dat maximaal 10% van de te analyseren monsters bij uitzondering mogen worden ingevroren.
- 11) Indien een afzonderlijk recipiënt voor Hg is voorzien, aangezuurd tot pH 1-2 met HNO₃ of HCl kan bij aankomst in het labo onmiddellijk en binnen 3 dagen na monsternamen BrCl-oplossing⁽¹⁾ worden toegevoegd.
- 12) Indien conservering ter plaatse niet mogelijk is, kan dit leiden tot een positieve bias van het meetresultaat. Bij overschrijding van de normwaarde moet hierover een opmerking op het analyseverslag worden gemaakt.

Tabel 3: Water bacteriologische parameters

Bepaling van	Minimale volume	Materiaal van het recipiënt	Opmerking	Aanbevolen en aanvaardbare bewaringsvoorzorgen en -termijn in uren volgens 150 19458	
				Gekoelde bewaring (5±3°C)	
				aanbevolen	aanvaardbaar ^b
Totaal kiemgetal (22°C, 36°C)	20 ml	P of G, steriel ^a	monsterfles niet volledig vullen	8	12
Coliformen	100 ml			1 2	18
<i>E.coli</i>	100 ml			1 2	18
Enterokokken	100 ml			1 2	18
<i>Salmonella spp.</i>	1000 ml			1 2	18
<i>Legionella pneumophila</i> en	250 ml			2 4	48
Coagulase positieve	100 ml			8	24
<i>Clostridium perfringens</i>	100 ml			1 2	18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100 ml			8	12

500 ml monsterrecipiënten zijn meestal voldoende, indien minder dan vijf types micro-organismen worden gemeten, waarvoor telkens maximaal een volume van 100 ml nodig is. In sommige gevallen zijn andere volumes nodig: voor *Legionella spp.* is er minimaal 250 ml nodig of minimaal 500 ml indien de screening met PCR gebeurt, voor flessenwater is er voor analyse 250 ml per parameter nodig, voor *Salmonella spp.* is er tot 1 liter nodig.

^a Voor drinkwater worden voorgeconserveerde steriele monsterrecipiënten gebruikt met 0,1 ml 1,8% natriumthiosulfaat pentahydraat-oplossing voor elke 100 ml volume van de monsterrecipiënt of een equivalente hoeveelheid vast product.

Voor waterbemonstering in therapiebaden en whirlpools/bubbelbaden, alsook bij koeltorens/klimaatregelingen, worden steriele monsterrecipiënten gebruikt waaraan 0,2 ml 1,8% natriumthiosulfaat pentahydraat-oplossing of een equivalente hoeveelheid vast product voor elke 100 ml volume van de monsterrecipiënt wordt toegevoegd.

Chelaatvormers zijn aanbevolen om bacteriën te beschermen tegen de werking van toxische zware metalen zoals koper of zink. EDTA (ethyleendiaminetetra-azijnzuur) of NTA (nitrilotriazijnzuur) kan worden gedoseerd via een filter-gesteriliseerde oplossing bij een eindconcentratie van ongeveer 5 mg per 100 ml monster.

Zilver kan worden geïnactiveerd door natriumsulfide, met een dosering van 0,1 ml van 0,1 mg/ml natriumsulfide-oplossing per 100 ml monster.

^b De tijdsduur tussen bemonstering en analyse kan afbreuk doen aan de betrouwbaarheid van de resultaten. Bijgevolg dienen bemonstering en analyses zo afgestemd te worden dat het aantal te analyseren monsters op de dag na de monsterneming tot een minimum wordt beperkt. Het laboratorium dient te streven naar de aanvaardbare termijnen door per parameter de watermonsters chronologisch in te zetten volgens het uur van monsternamen en door de meest kritische parameters (zoals totaal kiemgetal en *Pseudomonas aeruginosa*) prioriteit te geven.

Vanuit praktisch oogpunt geldt voor alle bacteriologische parameters (met uitzondering van *Legionella*) een tolerantie van 24 uur vanaf dag/uur van monsternamen. Het overschrijden van deze tolerantie moet vermeld worden op het analyseverslag.

Tabel 4: Water – ecotoxicologische parameters en bioeliminatie

Bepaling van	Minimale hoeveelheid	Materiaal van het recipient	Opmerkingen	Bewaringsvoorzorgen en maximale bewaartermijn
Bacterietest	100 ml	P of G		- 4 dagen gekoeld (1-5°C) ⁽²⁾ - 14 dagen diepvries (<-18°C) ⁽³⁾
Algentest	1000 ml	P of G		- 4 dagen gekoeld (1-5°C) ⁽²⁾ - 14 dagen diepvries (<-18°C) ⁽³⁾
Watervlo test	1000 ml	P of G		- 4 dagen gekoeld (1-5°C) ⁽²⁾ - 14 dagen diepvries (<-18°C) ⁽³⁾
Vistest met zebravisembryo	1000 ml	P of G	Test enkel in te zetten indien geleidbaarheid < 14000 µS/cm	- 4 dagen gekoeld (1-5°C) ⁽²⁾ - 14 dagen diepvries (<-18°C) ⁽³⁾
Vistest met juveniele forel	50 l	P of G	Test enkel in te zetten indien geleidbaarheid ≥ 14000 µS/cm	- 4 dagen gekoeld (1-5°C) ⁽²⁾ - 14 dagen diepvries (<-18°C) ⁽³⁾
Zahn-Wellens	25 l water + 2.5 l actief slib van ontvangende WZI ⁽¹⁾	P of G		- 24 u gekoeld (1-5°C) (water) - 24 u, luchtdicht, donker, gekoeld (1-5°C), (actief slib) ⁽⁴⁾

(1) Volumes voor bacterie, alg, watervlo en zebravisembryo test. Hoeveelheid slib en afvalwater herrekenen bij uitvoering van een vistest met forel, i.f.v. grootte van de vissen.

(2) Bij uitzonderlijke omstandigheden (zoals herhalingen) kan de bewaartermijn in de koelkast verlengd worden tot 7 dagen. Indien verlenging van bewaartermijn van toepassing is voor een test wordt dit steeds gerapporteerd als afwijking.

(3) Het invriezen van monsters ter conservering is een uitzonderingsmaatregel. In praktijk wordt als vuistregel gehanteerd dat maximaal 10% van de te analyseren monsters bij uitzondering mogen worden ingevroren. Indien de test werd uitgevoerd op ingevroren monsters dan wordt dit altijd gerapporteerd als afwijking.

(4) Zie ISO 5667-15 (2009) m.b.t. parameters respiratie, biodegradatie.

4 VOORBEHANDELING

4.1 HOMOGENISATIE

Opdat het deelmonster representatief zou zijn voor het gehele laboratoriummonster dient voorafgaand een homogenisatie van het monster te worden uitgevoerd.

Watermonsters worden veelal manueel geschud.

4.2 DEELBEMONSTERING

Vooraleer tot deelbemonstering wordt overgegaan, dient het monster zorgvuldig te worden gemengd (zie homogenisatie).

De deelbemonstering van waterstalen beperkt zich in hoofdzaak tot het uitgieten van een hoeveelheid monster in een deelmonsterrecipiënt of pipetteren van een welbepaalde hoeveelheid uit het oorspronkelijk recipiënt.

Bij de deelbemonstering rechtstreeks uit het oorspronkelijk recipiënt van het analysemonster dienen de nodige voorzorgen genomen te worden om mogelijk contaminatiegevaar te vermijden.

5 REFERENTIES

- ISO 5667-3:2018 Water quality — Sampling — Part 3: Preservation and handling of water samples
- ISO 5667-15: 2009 Water quality - Sampling - Part 15: Guidance on preservation and handling of sludge and sediment samples
- NVN 5730: 1991 Bodem. Monstervoorbehandeling voor de bepaling van organische parameters in grond
- NVN 5870: 1995 Afvalstoffen. Analyse van afvalstoffen. Monstervoorbehandeling voor de bepaling van het gehalte aan organische en anorganische parameters
- Vito rapport 2011/MANT/R/021, *Monsterconservering en -bewaring van anorganische parameters*, C. Vanhoof, K. Duyssens en K. Tirez, https://reflabos.vito.be/onderzoeksrapporten/2010_Rapport_conservering_finaal.pdf
- ISO 12846:2012 Water quality - Determination of mercury - Method using atomic absorption spectrometry (AAS) with and without enrichment.
- EN 25813:1992 (ISO 5813:1983) Water quality - Determination of dissolved oxygen - Iodometric method
- ISO 19458: 2006 Water quality - Sampling for microbiological analysis.
- ISO/DIS 5667-3:2023 Water quality — Sampling — Part 3: Preservation and handling of water samples

Bepaling van het debiet in controle-inrichtingen voor afvalwater

INHOUD

1	Doel en Toepassingsgebied	4
2	Definities	4
3	Apparatuur, materieel en benodigdheden	6
3.1	<i>Gesloten controle-inrichting voor afvalwater</i>	6
3.1.1	Debietmeter gesloten controle-inrichting	6
3.2	<i>Open controle-inrichting voor afvalwater</i>	7
3.2.1	Meetgoten (venturi)	7
3.2.2	Meetschotten	10
3.2.3	Debietmeter open controle-inrichting	11
3.3	<i>Debietregistratie-apparatuur</i>	13
3.4	<i>Overige benodigdheden en materieel</i>	13
4	Bepaling van het debiet in een gesloten controle-inrichting	14
5	Bepaling van het debiet in een open controle-inrichting	14
5.1	<i>Identificatie controle-inrichting</i>	14
5.1.1	Bepalen van de afmetingen van de controle-inrichting	14
5.1.2	Typering controle-inrichting	16
5.1.3	Staat van de open controle-inrichting	16
5.1.4	Omgaan met afwijkingen bij een open controle-inrichting	16
5.2	<i>Plaatsing debietmeetsysteem</i>	16
5.2.1	Plaatsing van het borrelbuisstelsel	16
5.2.2	Plaatsing van het ultrasoon systeem	17
5.3	<i>Debietformule</i>	17
5.4	<i>Instelling nulpunt</i>	18
5.5	<i>Controle waterhoogte</i>	19
5.5.1	Meetlocatie van de waterhoogte bij een meetgoot	19
5.5.2	Meetlocatie van de waterhoogte bij een meerschot	20
6	Registratie van het debiet	20
6.1	<i>Instellen registratietoestel (printer, logger)</i>	20
6.2	<i>Weergave van het debiet</i>	20
6.2.1	Ogenblikkelijk debiet	21
6.2.2	Totale debieten	21
7	Verzegeling	21
8	Rapportering	21
9	Kwaliteitscontrole	22
9.1	<i>Gesloten controle-inrichting</i>	22
9.2	<i>Open controle-inrichting</i>	22

9.2.1	Controle van de actuele t.o.v. de gemeten waterhoogte	22
9.2.2	Controle van de omrekening van de hoogtemeting naar debiet door de debietmeter	22
9.2.3	Controle van de lineariteit	23
10	Referenties	23
	BIJLAGE A : Maat- en typeringstabellen open controle-inrichtingen	24
	BIJLAGE B : Debiettabellen open controle-inrichtingen	38
	BIJLAGE C : Omrekeningsformule(s) waterhoogte - debiet voor open meetgoten (informatief)	39
C.1	Vlakke meetgoten met rechthoekige doorsnede	39
C.1.1	Debietformule conform ISO 4359	39
C.1.2	Vereenvoudigde debietformule	39
C.1.3	Herberekening debiet met werkelijke maten conform ISO 4359	40
C.2	Vlakke meetgoten met parabolische doorsnede	40
C.3	Khafagi meetgoten	41
C.3.1	Khafagi QV	41
C.3.2	Hydrologic	41
C.4	Parshall meetgoten	41
C.5	Meetschot met driehoekige uitsnijding (V-schot, Thomson)	41
	BIJLAGE D : Beschrijving en omrekeningsformules van rechthoekige en trapeziumvormige meetschotten (informatief)	43
D.1	Meetschot met rechthoekige contractie	43
D.2	Meetschot met trapeziumvormige contractie (Cipolletti)	45
	BIJLAGE E : Rekenblad voor debietsbeoordeling (informatief)	46

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de bepaling van het debiet in een open of gesloten controle-inrichting voor het lozen van afvalwater.

Deze methode is toepasbaar op de debietmeting in, enerzijds gesloten controle-inrichting waar een elektromagnetische of inductieve debietmeter is geïnstalleerd door het bedrijf, en anderzijds op open controle-inrichtingen waarbij het debiet via een hoogtemeting in een meetgoot (venturi) of meetschot wordt bepaald. In deze methode worden zowel meetgoten met vlakke en parabolische bodem behandeld, alsook Parshall-goot, Khafagi-goten en meetschotten met driehoekige opening (V-schot).

De debietsmeting in deze methode kan ook deel uitmaken van een debietsgebonden monsternamen conform WAC/I/A/004.

2 DEFINITIES

- Gesloten controle-inrichting: meetsysteem dat het debiet meet in een gesloten leiding of in een gesloten drukleiding, waarbij het afvalwater niet in contact staat met de buitenlucht.
- Open controle-inrichting: bij een open afvoer voor het lozen van afvalwater kan het debiet bepaald worden via een zogenaamde 'open controle-inrichting' of 'open kanaal'. Dit open kanaal kan een meetgoot of een meetschot zijn.
- Meetgoot (synoniem venturi): een betonnen, metalen of kunststoffen constructie waarbij de goot een kunstmatige vernauwing van de zijwanden vertoont, al dan niet met een ingebouwde verhoging of verdieping van de bodem ter plaatse van de vernauwing waardoor kritische stroming wordt teweeg gebracht om debieten te kunnen meten. Meetgoten worden onderverdeeld volgens de vorm van de bodem in de meetgoot (bijv. vlak, parabolisch,...), alsook van het profiel.
- Meetschot: vlakke plaat met een uitsparing, die dwars in het afvoerkanaal (meetput) wordt geplaatst. Het afvalwater wordt hierdoor opgestuwd en stroomt door een uitsparing van het schot weg. Het waterniveau voor het schot is evenredig met het doorstromende debiet.
- Keel: het gedeelte van een meetgoot waarin kritische stroming optreedt, meestal waar de natte dwarsdoorsnede van de meetgoot het kleinst is. De keel kan een rechthoekig, trapeziumvormige, U-vormige of een andere speciaal ontworpen vorm (bijv. parabolisch) hebben. Binnen deze WAC worden enkel de rechthoekige en parabolische meetgoten behandeld.
- Debietmeter: meter waarmee (bijvoorbeeld door middel van druk of ultrasoon) het debiet gemeten wordt.
- Elektromagnetische of inductieve debietmeter: een debietsmeter die werkt volgens het principe dat wanneer stromend water zich in een gesloten leiding door een magnetisch veld verplaatst, er een elektrische spanning opgewekt wordt. De opgewekte spanning wordt doorgestuurd naar de afleeseenheid, die zet de spanning om in een genormaliseerd uitgangssignaal evenredig met het debiet.

- Borrelbuis: een instrument voor de hoogtemeting van een vloeistof bestaande uit een buis met een in- en uitgang die verbonden is met de debietmeter en waarin langs de ingang lucht wordt geblazen en langs de uitgang de druk wordt gemeten.
- Ultrasoonsensor: een zender die periodiek een ultrasoon signaal stuurt dat na terugkaatsing wordt ontvangen.
- Blockafstand: dode zone onder de ultrasoonsensor waarbinnen geen stabiele meting wordt bekomen.
- Debietregistratietoestel: apparaat dat continu, of met regelmatige tussenpozen, de parameters gemeten door de bijbehorende sensors (bijv. debiet) registreert.
- Ogenblikkelijk debiet: de hoeveelheid geloosd afvalwater gedurende een moment van meting.
- Totaal uur- of dagdebiet: de totale hoeveelheid geloosd afvalwater gedurende één uur resp. 24 h van meting.
- Technisch dossier: documentatie van de historiek van de controle-inrichting en van het debietmeet- en registratiesysteem (oa. meetverslagen, onderhoudsrapporten, controles), zoals opgelegd in de Code van Goede Praktijk voor installatie, onderhoud en controle van een open^b of gesloten^a controle-inrichting voor debietmeting van afvalwater. De vorm waaronder deze documentatie en registraties worden uitgevoerd, ligt niet vast maar de vereiste gegevens moeten op eenvoudige wijze kunnen voorgelegd worden.
- Uitgangssignaal: het analoge 4-20 mA signaal of digitaal pulssignaal van een debietmeter.
- $h_{\min}$: de minimale waarde (ondergrens) van de waterhoogte h waarbij het debiet ($Q_{\min}$) met een voldoende nauwkeurigheid kan bepaald worden.
- $h_{\max}$: de maximale waarde (bovengrens) van de waterhoogte h waarbij het debiet ($Q_{\max}$) met een voldoende nauwkeurigheid kan bepaald worden.
- h_{overloop} : de waterhoogte gelijk aan de hoogte van het meetgedeelte van de controle-inrichting, en waarbij de controle-inrichting overloopt

3 APPARATUUR, MATERIEEL EN BENODIGDHEDEN

3.1 GESLOTEN CONTROLE-INRICHTING VOOR AFVALWATER

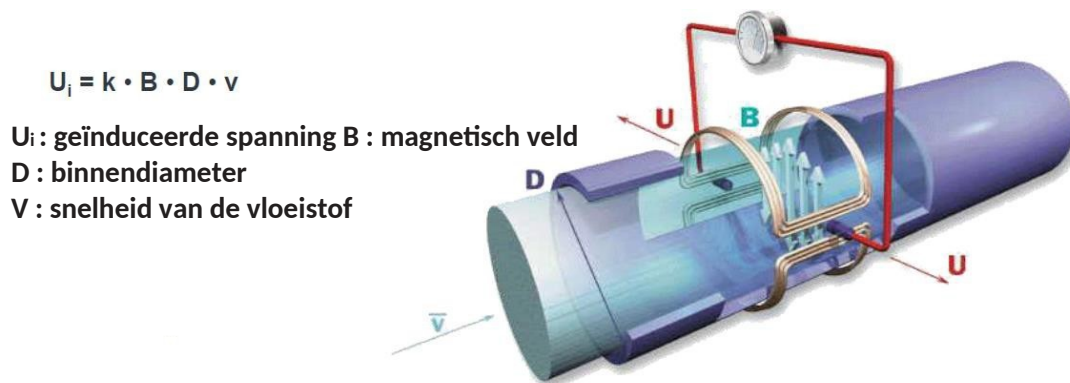
Een gesloten controle-inrichting bestaat uit een gesloten debietmeetsysteem dat op, of tussen, een gesloten leiding wordt geplaatst waarlangs het water wordt geloosd. Het gesloten meetsysteem dient in zodanige staat geïnstalleerd en onderhouden te worden, dat een debietmeting steeds kwaliteitsvol en veilig kan gebeuren. De voorwaarden voor het lozen van het afvalwater via een gesloten of open afvoer staan in VLAREM II Bijlage 4.2.5.1. Controle-inrichting voor lozingen van afvalwaters, en is voor gesloten afvoeren verder uitgewerkt in de Code van Goede Praktijk (CvGP) voor gesloten controle-inrichtingen^a. De uitvoering van deze voorwaarden, en documentatie ervan in een zogenaamd 'technisch dossier', vallen onder de verantwoordelijkheid van de exploitant. De exploitant stelt het technisch dossier, of relevante onderdelen m.b.t. het uitvoeren van de debietsmeting ervan, op diens vraag ter beschikking aan het laboratorium.

3.1.1 DEBIETMETER GESLOTEN CONTROLE-INRICHTING

De meest gangbare methode om debiet in gesloten leidingen te meten is met behulp van een **elektromagnetische (EM) debietmeter**, ook wel magnetisch- inductieve meter (MID) genoemd.

Het principe van de elektromagnetische debietmeter, is gebaseerd op 'de wet van Faraday'. Volgens deze wet wekt een elektrische geleider (het water dat door de debietmeter stroomt) die zich beweegt in een magneetveld (opgewekt door twee veldspoelen aan weerszijde van de meetbuis van de elektromagnetische debietmeter) een spanning op.

Twee meetelektroden in de meetbuis, die loodrecht op de veldspoelen zijn geplaatst, detecteren de opgewekte spanning, welke wordt opgewekt door het stromende water. Het signaal wordt versterkt door een meetversterker, waarbij de opgewekte spanning proportioneel is aan de doorstromingssnelheid van de vloeistof, en dus ook aan het debiet.



Figuur 1: principe EM debietmeter

Een elektromagnetische debietmeter bestaat enerzijds uit de meetbuis dat omringd is door een spoel en een elektrodepaar bevat, en anderzijds uit een signaalomvormer die de schakelcircuits bevat om de gegevens van het stroomsignaal van de elektrode om te zetten in een standaard uitvoersignaal dat direct evenredig is met het debiet. Voor het geheel van het meetsysteem geldt dat:

- het ogenblikkelijk debiet en/of de actuele waterhoogte lokaal afleesbaar moet zijn

- de software en hardware beveiligd moet zijn tegen accidentele ongewenste wijzigingen of veranderingen van de instellingen waardoor onjuiste meetgegevens kunnen worden verkregen.

Bij een gesloten controle-inrichting voert het erkend laboratorium doorgaans geen eigen debietmeting uit, maar moeten zij gebruik maken van het uitgangssignaal van de (elektromagnetische) debietmeter die geïnstalleerd is door het bedrijf zelf.

Voor de eisen die het laboratorium moet stellen bij het gebruik van een debietmeter van het bedrijf, wordt verwezen naar 4.

3.2 OPEN CONTROLE-INRICHTING VOOR AFVALWATER

In een open controle-inrichting voor het lozen van afvalwater wordt het debiet bepaald in een zogenaamd 'open kanaal' waardoor het afvalwater stroomt en waarin, ofwel een meetgoot, ofwel een meetschot, geïnstalleerd is. Voor een debietmeting in een open controle-inrichting installeert het erkend laboratorium een (eigen) debietmeetsysteem (bijv. borrelbuis of ultrasoon) in het bestaande open kanaal (meetgoot of meetschot) van het bedrijf.

Voor het erkend laboratorium dat de debietmeting uitvoert, is het vooral belangrijk dat de verschillende types controle-inrichtingen (3.2.1 en 3.2.2) gekend en geïdentificeerd kunnen worden. Deze typering bepaald namelijk de toe te passen debietformule om van de gemeten waterhoogte om te rekenen naar debiet.

De volledige specificaties voor een open controle-inrichting zijn opgenomen in VLAREM II Bijlage 4.2.5.1^c en in de Code van Goede Praktijk voor open controle-inrichtingen^b.

Het open kanaal (meetgoot of meetschot) op zich dient in zodanige staat geïnstalleerd en onderhouden te worden, dat de meting van het debiet steeds kwaliteitsvol en in alle veiligheid kan gebeuren. De voorwaarden hiervoor zijn tevens opgenomen in de Code van Goede Praktijk voor open controle-inrichtingen^b. De uitvoering ervan valt onder de verantwoordelijkheid van de exploitant, maar overlapt ook (gedeeltelijk) met de uit te voeren kwaliteitscontroles bij de debietmeting. De exploitant is verantwoordelijk voor de documentatie van de controle-inrichting in een zogenaamd 'technisch dossier'. Dit technisch dossier, of relevante onderdelen m.b.t. het uitvoeren van de debietmeting ervan, worden op diens vraag ter beschikking gesteld aan het laboratorium.

3.2.1 MEETGOTEN (VENTURI)

Een meetgoot bestaat uit een kanaal waarin een lokale vernauwing wordt aangebracht. Deze vernauwing wordt meestal aangeduid als de keel van de meetgoot. De dwarssectie van deze keel is meestal rechthoekig (vlakke meetgoot), maar kan ook parabolisch zijn (parabolische meetgoot). Er bestaan ook meetgoten met een trapezoidale of met U-vormige dwarsdoorsnede, maar deze types worden niet behandeld in deze WAC-methode.

Omdat er stroomafwaarts van de keel geen opstuwing wordt veroorzaakt, wordt in de keel de kritische waterhoogte bereikt. Dit betekent dat er op deze plaats een uniek verband bestaat tussen het debiet en de waterhoogte in de keel van de meetgoot. De waterhoogte wordt echter meestal bepaald in het aanvoerkanaal (vaak is er op die plaats een zijdelingse meetput geïnstalleerd). Stroomopwaarts van de keel is de stroming immers veel kalmer en is het eenvoudiger en meer betrouwbaar om de waterhoogte te meten. Er bestaat dan een uniek verband tussen waterhoogte ter hoogte van de meetsectie en het debiet dat door het kanaal stroomt.

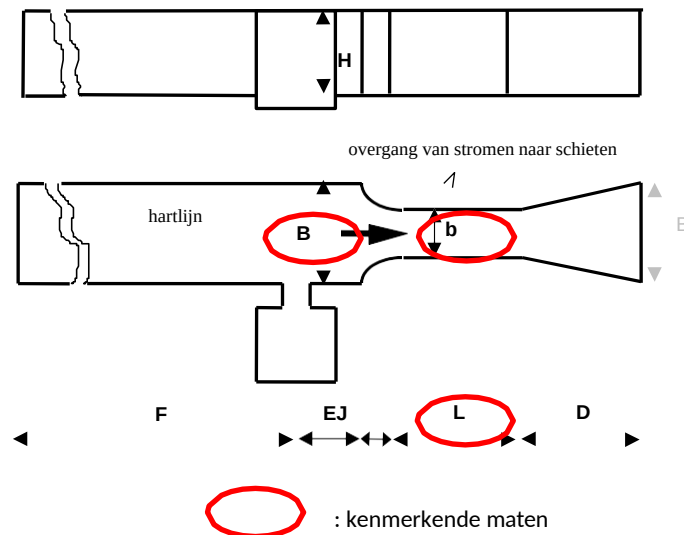
Meetgoten worden ingedeeld op basis van de vorm van de doorsnede en de lengte van de keel.

3.2.1.1 VLAKKE MEETGOOT MET RECHTHOEKIGE DOORSNEDE EN LANGE KEEL

De grootste groep van meetgoten zijn deze met vlakke bodem, rechthoekige doorsnede en lange keel. De configuratie van een vlakke meetgoot en de identificatie van de afmetingen zijn weergegeven in Figuur 2.

Vlakke meetgoten bestaan in verschillende groottes (afhankelijk van het debiet dat geloosd wordt) en in types/fabricaten, meestal uitgevoerd in gestandaardiseerde afmetingen. Om dit type meetgoot te herkennen moet men letten op de vorm van de keel: na de vernauwing is deze constant.

De kenmerkende maten van een vlakke meetgoot met rechthoekige doorsnede zijn: B (breedte van het kanaal), b (breedte van de keel) en L (de lengte van de keel).

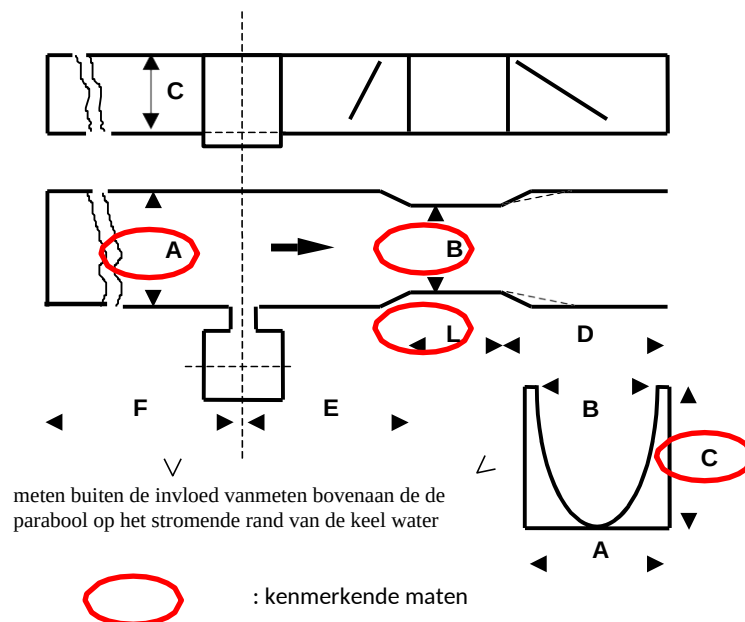


Figuur 2: Schematische voorstelling meetgoten met vlakke bodem, rechthoekige doorsnede en lange keel [B: breedte van het aanvoerkanaal; b: breedte van de keel; D: lengte van het divergerende deel van de meetgoot (uitgang meetsectie); E: lengte hartlijn meetput tot aan de keel; F: lengte aanvoerkanaal-hartlijn meetput J: lengte van de convergerende zone (ingang meetsectie); L: lengte van de keel; H: hoogte van de meetgoot] (bron: VMM)

3.2.1.2 MEETGOTEN MET PARABOLISCHE DOORSNEDE EN LANGE KEEL

Naast de meetgoten met vlakke bodem, bestaan er ook meetgoten met een paraboolvormige keeldoorsnede. Er zijn parabolische meetgoten verkrijgbaar in verschillende groottes met gestandaardiseerde afmetingen (PI t.e.m. PVII), afhankelijk van het debiet dat geloosd wordt. De configuratie van een parabolische meetgoot en is weergegeven in Figuur 3.

De kenmerkende maten zijn: de breedte van de parabool (B), de breedte van het aanvoerkanaal (A) en de hoogte van de meetgoot (C) of de lengte van de keel (L).



Figuur 3: Schematische voorstelling van meetgoot met parabolische bodem met aanduiding van maten [A: breedte van het aanvoerkanaal; B: breedte van de keel (parabool)]; C: hoogte van de meetgoot; D: lengte afvoerkanaal vanaf de vernauwing/keel; E: lengte hartlijn meetput tot aan de vernauwing/keel; F: lengte aanvoerkanaal-hartlijn meetput; L: lengte van de vernauwing/keel] (bron: VMM)

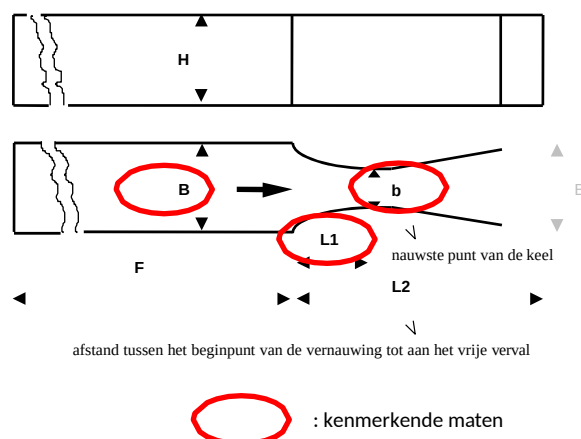
3.2.1.3 KHAFAGI MEETGOOT

In alle lozingsformules voor rechthoekige meetgoten wordt de effectieve kromming van het stromingsprofiel in de versmalling niet meegerekend. Om meer nauwkeurige waarden voor het debiet, afhankelijk van het waterniveau te krijgen, heeft Khafagi een ander model meetgoot ontwikkeld.

Kenmerkend voor deze meetgoot is dat de inlooptengete van de versmalling relatief kort wordt gehouden en dat de versmalling zelf de vorm heeft van een boog.

Ter identificatie is het noodzakelijk om 3 kenmerkende maten te bepalen: B (breedte van het kanaal), b (breedte van de keel gemeten op het smalste punt) en L1 (radius van de boog).

De configuratie van een meetgoot van het type Khafagi QV is weergegeven in Figuur 4.



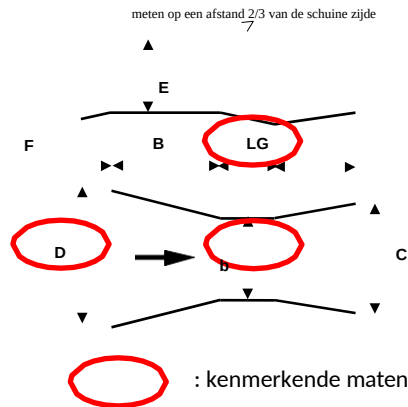
Figuur 4 Schematische voorstelling van Venturi meetgoot type Khafagi QV met aanduiding van maten (bron: VMM)
[B: breedte van het aanvoerkanaal; b: breedte van de keel; L1: radius van de boog; L2: lengte afvoerkanaal vanaf de vernauwing/keel; F: lengte aanvoerkanaal-hartlijn meetput; H: hoogte van de meetgoot]

Er bestaan nog andere types Khafagi-achtige meetgoten (bijv. type Hydrologic); voor meer informatie hierover wordt verwezen naar de CVGP voor gesloten controle-inrichtingen^b (bijlage A.3).

3.2.1.4 PARSHALL MEETGOOT

De configuratie van een meetgoot van het type Parshall en de identificatie van de afmetingen zijn weergegeven in Figuur 5. Deze meetgoot heeft rechtopstaande wanden en een knik in de bodem. Dit laatste is het belangrijkste herkenningspunt. In principe is het een speciale toepassing van een meetgoot met vlakke bodem.

Opnieuw worden 3 kenmerkend maten gekarakteriseerd: b (de breedte van de vernauwing), L (lengte vernauwing) en D (breedte kanaal voor vernauwing).



Figuur 5: Schematische voorstelling van Venturi meetgoot type Parshall met aanduiding van maten (bron: VMM)
[b: breedte van de vernauwing; B: lengte van het convergerende gedeelte voor de vernauwing; C: breedte van het afvoerkanaal; D: breedte van het aanvoerkanaal; E: afstand van de verhoging tot de rand van de meetgoot; L: lengte van de vernauwing; G: lengte van het divergerende gedeelte na de vernauwing]

3.2.2 MEETSCHOTTEN

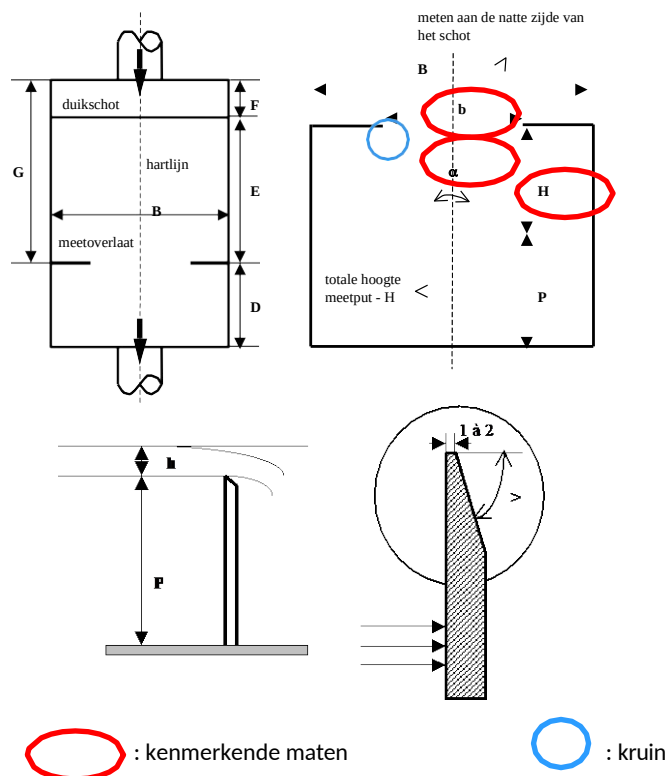
Bij een open afvoer van afvalwater is een meetschot als controle-inrichting ook toegelaten. De drie gekende types meetschotten zijn het V-meetschot (3.2.2.1), het rechthoekige meetschot (BIJLAGE D) en het trapeziumvormige meetschot (Cipolletti overlaat, BIJLAGE D).

3.2.2.1 V-SCHOT (THOMSON-MEETSCHOT)

Een V-meetschot heeft een driehoekige opening. Dit type is geschikt voor het meten van kleine stromen met een hoge nauwkeurigheid en/of voor sterk wisselende doorstromingen. V-schotten zijn de meest voorkomende. De hoogte (H) van het V-schot (gemeten in de uitsparing tot aan de bovenste rand) en de breedte (b) van de opening worden gemeten en op basis van deze waarden wordt de hoek van de uitsnijding (α) berekend.

$$\tan \frac{\alpha}{2} = \frac{b/2}{h}$$

In praktijk zijn 3 hoeken in gebruik: 28°4, 53°8' of 90°.



Figuur 6: Schematische voorstelling van meetschot met Thomson overlaat met aanduiding van maten (bron: VMM)
 [B: breedte van het aanvoerkanaal; α:hoek van de V-vormige uitsnijding; H: hoogte van de V-vormige uitsnijding h: waterhoogte; P: hoogte van het puntje van de V-vormige uitsnijding ten opzichte van de vloer; D: stroomafwaartse afstand van het meetschot tot aan de putwand; E: afstand tussen duikschot en meetschot; F: stroomopwaartse afstand van putwand tot aan het duikschot; G: stroomopwaartse afstand van de putwand tot aan het meetschot]

3.2.3 DEBIETMETER OPEN CONTROLE-INRICHTING

Bij een open controle-inrichting installeert het erkend laboratorium een (*eigen*) debietmeetsysteem (bijv. borrelbuis of ultrasoon) in het bestaande open kanaal (meetgoot of meetschot) van het bedrijf. Het geloosde debiet wordt gerelateerd aan het waterniveau voor een obstructie in het open kanaal. Er bestaan meerdere systemen om dit waterniveau te meten, maar de twee meest gebruikte mobiele systemen in dit kader zijn het **borrelbuisstelsel** (3.2.3.1) en het **ultrasoonstelsel** (3.2.3.2). Beiden hebben hun voor- en nadelen, en gezien geen van beide in alle omstandigheden bruikbaar zijn, is het noodzakelijk dat een erkend laboratorium over beide systemen beschikt en kan toepassen.

Voor beide meetsystemen geldt dat:

- de hoogtemeting voldoende nauwkeurigheid moet behalen in functie van de te meten hoogte of afstand. Deze nauwkeurigheid dient beter te zijn dan de toegestane tolerantie op de hoogtemeting bij controle van de waterhoogte. Deze tolerantie is per type controle-inrichting vermeld in de betreffende debiettabel ("Tolerantie h");
- het ogenblikkelijk debiet en/of de actuele waterhoogte lokaal afleesbaar moet zijn;
- de software en hardware beveiligd moet zijn tegen accidentele ongewenste wijzigingen of veranderingen van de instellingen waardoor onjuiste meetgegevens kunnen worden verkregen.

In bepaalde gevallen, wanneer het laboratorium geen eigen debietmeting kan installeren, wordt gebruik gemaakt van het uitgangssignaal de vast opgestelde debietmeter van het bedrijf (bijv. ultrasoon sensor). Het laboratorium documenteert in dat geval in het meetverslag de

omstandigheden waarbij de installatie van een eigen debietmeting niet mogelijk was. Het laboratorium vraagt voor aanvang van de debietmeting bij het bedrijf een kopie op van een geldige kwaliteitscontrole cfr. de CvGP van de gebruikte debietmeter^b, of voert een eigen kwaliteitscontrole van het debietmeetsysteem uit (9.2.1 en 9.2.2). De datum van uitvoering van de kwaliteitscontrole wordt door het erkend laboratorium gedocumenteerd in het meetverslag.

3.2.3.1 BORRELBUIS

Een borrelbuis maakt gebruik van een interne luchtcompressor om een vaste hoeveelheid lucht via een borrelbuis in het water te duwen. Door de druk te meten die noodzakelijk is om deze luchthoeveelheid uit de borrelbuis te krijgen bepaalt men de waterhoogte. Bij een hogere of lagere waterstand in de open controle-inrichting, is er resp. een grotere of kleinere druk nodig om het water uit de borrelbuis weg te drukken. Dit drukverschil is een maat voor de hoogte van het water in het meetkanaal.

Borrelbuizen zijn mobiel en makkelijk op te stellen, en vandaar vaak gebruikt als tijdelijke opstelling door erkende laboratoria. In situaties met bv. zwevende delen, vet, enz. bestaat het risico dat de opening van de borrelbuis vernauwt waardoor het gemeten debiet hoger is dan het werkelijk geloosde debiet. Het borrelbuisstelsel is, mits voldoende corrosiebestendig uitgevoerd, geschikt voor alle typen water.

Wanneer er geen zijdelingse meetput aanwezig is, moet een ultrasone sensor gebruikt worden. In geen geval mag de borrelbuis in de controle-inrichting of het aan- en afvoerkanaal geplaatst worden.

3.2.3.2 ULTRASONE SENSOR

Een zender, geplaatst boven de meetgoot of meetschot, zendt een ultrasonische golf uit die op het vloeistofoppervlak als echosignaal weerkaatst wordt. De tijd tussen de uitzending van het signaal en de opname van de echo is een maat voor de afstand tussen ultrasone sensor en wateroppervlak. Bij een juiste instelling van het nulpunt is deze tijd dus ook een maat voor de waterhoogte in de controle-inrichting. Het voordeel van deze methode is dat er geen contact is met het afvalwater. De snelheid van het signaal wordt beïnvloed door de omgevingstemperatuur, zodat een (ingebouwde) temperatuurscompensatie noodzakelijk is. Dit moet een zeer nauwkeurige temperatuurmeting zijn, die beschermd moet worden tegen bijvoorbeeld de invloed van direct zonlicht.

De ultrasoonsonde moet worden toegepast bij meetgoten waar geen zijdelingse meetput aanwezig is. De opstelling van een ultrasoonsonde vergt meer aandacht en voorzieningen, en vandaar dat deze techniek minder vaak als mobiele of tijdelijke debietmeting wordt toegepast (enkel in situaties waar de borrelbuis niet toepasbaar is). De sensor moet namelijk perfect horizontaal (waterpas) boven het wateroppervlak opgesteld worden. De sensor moet aan een stevige, vaste constructie bevestigd worden, zodat de horizontale positie en de verticale montage-afstanden gedurende de periode van debietmeting behouden kunnen blijven. Tevens moet de minimale afstand tussen de het wateroppervlak en de ultrasoonsonde gerespecteerd worden; raadpleeg hiervoor de voorschriften van de leverancier van de sonde.

Bij schuimvorming, waterdamp, of indien er condensatie van het water onderaan de ultrasoonsonde optreedt, wordt de meting gestoord en moet een ander debietmeetsysteem geïnstalleerd worden.

3.2.3.3 ANDERE DEBIETMEETSYSTEMEN

Andere debietmeetsystemen worden toegelaten indien aan de bevoegde overheid kan worden aangetoond dat de nauwkeurigheid overeenkomstig deze van de ultrasone sensor en van borrelbuis is (zie 3.2.3).

3.3 DEBIETREGISTRATIE-APPARATUUR

De registratie van de meting gebeurt via printer/plotter of via digitale opslag die aan de debietmeter wordt gekoppeld of ingebouwd is. De software van het registratiesysteem moet beveiligd zijn tegen accidentele ongewenste wijzigingen of veranderingen van de instellingen waardoor onjuiste meetgegevens kunnen worden verkregen.

3.4 OVERIGE BENODIGDHEDEN EN MATERIEEL

- 3.4.1. Kunststof tubing borrelbuis - debietmeter
- 3.4.2. Elektrisch kabelmateriaal voor koppeling debietmeter met registratie-apparatuur
- 3.4.3. Lange meetlat, rei, winkelhaak, voetjespasser of schuifpasser, rolmeter om maten van de meetinrichting te bepalen, afleesbaar op min. 1 mm
- 3.4.4. T-Lat, L-Lat of speciaal daarvoor ontwikkelde meetopstelling voor meten van de waterhoogte bij een meetschot
- 3.4.5. Waterpas
- 3.4.6. Hellingsmeter met weergave in mm/m, of mogelijkheid tot omrekening naar mm/m
- 3.4.7. Min-max-mallen ($\pm 2\%$) voor vormcontrole van parabolische meetgoten (zie leverancier paraboolgoot)
- 3.4.8. Dunne (max. 2 mm) meetlat, afleesbaar op min. 1 mm voor het meten van de waterhoogte. De lat moet met de smalle zijde loodrecht in de stroming geplaatst kunnen worden zonder dat deze plooit of buigt door druk, en dient in die zin dus niet plooibaar of buigzaam te zijn.
- 3.4.9. Waterdetectiepasta of wateroplosbare stift
- 3.4.10. Klemmen en/of bevestigingsmateriaal voor borrelbuis of ultrasoonsensor
- 3.4.11. Verzegeldraad en zegels
- 3.4.12. Meetblad controle-inrichting
- 3.4.13. Maattabellen voor typering/identificatie van een open controle-inrichting
- 3.4.14. Debiettabellen (relatie waterhoogte-debiet) per type open controle-inrichting
- 3.4.15. Fototoestel (facultatief)

4 BEPALING VAN HET DEBIET IN EEN GESLOTEN CONTROLE-INRICHTING

Het erkend laboratorium maakt in dit geval gebruik van het uitgangssignaal van de elektromagnetische debietmeter die door het bedrijf zelf geïnstalleerd is in de gesloten controle-inrichting. Voor opstart van de debietmeting wordt technisch dossier van de gebruikte debietmeter opgevraagd bij de exploitant. Volgende afspraken moeten tussen beide partijen gemaakt worden:

- Het bedrijf moet een continu beschikbaar analoog en/of digitaal uitgangssignaal ter beschikking stellen aan de debietmeter, waaraan de registratie-apparatuur van het laboratorium (zie ook 6.1) kan gekoppeld worden.
Conform de CvGP voor gesloten controle-inrichtingen^a zouden de aansluitmogelijkheden van de debietmeter gedocumenteerd moeten zijn in het technisch dossier van de gebruikte debietmeter, en moet deze informatie door het bedrijf ter inzage voorgelegd worden aan het erkend laboratorium dat de debietmeting uitvoert.
- Het erkend laboratorium vraagt voor aanvang van de debietmeting bij het bedrijf een kopie op van een geldige kwaliteitscontrole cfr. de CvGP van de gebruikte debietmeter^a. De aan-/of afwezigheid van een geldige kwaliteitscontrole en de datum van uitvoering ervan, wordt door het erkend laboratorium gedocumenteerd in het meetverslag.

5 BEPALING VAN HET DEBIET IN EEN OPEN CONTROLE-INRICHTING

5.1 IDENTIFICATIE CONTROLE-INRICHTING

Voor opstart van de debietmeting wordt technisch dossier van de open controle-inrichting opgevraagd bij de exploitant.

Ter plaatse wordt, op basis van de visuele kenmerken zoals beschreven in 3.2.1 (meetgoten) en 3.2.2 (meetschotten), het type controle-inrichting bepaald aan de hand van de maattabellen (BIJLAGE A). Ter bevestiging worden minimaal de kenmerkende maten van de controle-inrichting bepaald:

- i. bij een eerste debietmeting worden alle maten van controle-inrichting (zie BIJLAGE A) ter identificatie gemeten conform 5.1.1 en genoteerd op het meetblad.
- ii. bij elke volgende debietmeting ~~volstaat worden het om~~ minimaal jaarlijks de kenmerkende maten (zie 3.2.1 en 3.2.2) ~~na te~~ gemeten conform 5.1.1 en ~~te~~ genoteerd op het meetblad. De kenmerkende maten van een meetinrichting zijn aangegeven in Figuur 2 t.e.m. Figuur 6.

5.1.1 BEPALEN VAN DE AFMETINGEN VAN DE CONTROLE-INRICHTING

De afmetingen worden opgemeten aan de hand van een meetlat, rei, schuifpasser of voetjespasser (voor kleine meetgoten); voor bepaalde afmetingen kan ook een rolmeter worden gebruikt:

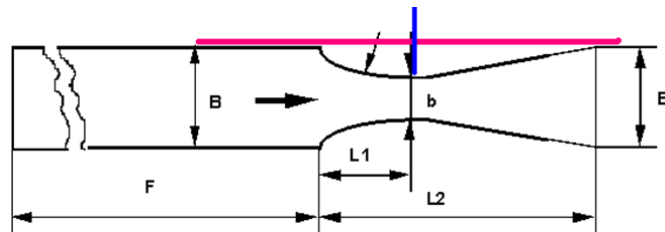
- Horizontale en verticale lijnen van kleine meetgoten (met $h_{\max} \leq 25$ cm) worden nagezien aan de hand van een waterpas¹.
Bij grotere meetgoten (met $h_{\max} > 25$ cm) wordt een helling(sgraad) bepaald met een hellingsmeter (mm/m)².

¹ Voor het criterium "waterpas" geldt in langs- en dwarsligging waterpas.

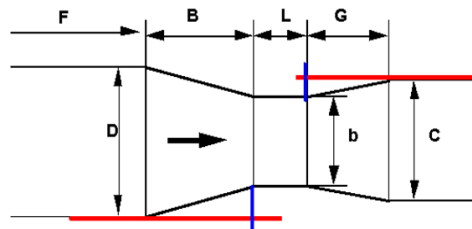
² Volgende toleranties op de hellingsgraad worden toegelaten:

- helling bodem keel in stromingsrichting: max. 5 mm/m
- helling bodem kanaal in stromingsrichting tot meetsectie: max. 10 mm/m

- De **breedtes** van het kanaal en van de vernauwing(keel) wordt gemeten op 3 plaatsen:
 - begin – midden – einde, van het kanaal resp. vernauwing
 In het midden wordt de breedte van het aanvoerkanaal en van de vernauwing (keel) tevens op 3 hoogtes gemeten:
 - bodem (tussen 0-5 cm)
 - midden (1/2 hoogte meetgoot)
 - boven (aan de bovenrand van de goot).
- Bij een meetgoot met vlakke bodem wordt de lengte van de keel (L) gemeten door het plaatsen van een meetlat in de vernauwing recht tegen de zijwand. De vernauwing begint met een boog en eindigt met een knikpunt. De lat wordt gelijkgelegd met het knikpunt (0 cm van de meetlat) en de plaats waar de lat de vernauwing niet meer raakt (het buigpunt) is het punt waar L wordt gemeten.
- Bij een meetgoot met parabolische bodem dient de kromming gecontroleerd te worden met de overeenkomstige min-max-mallen per type parabool ($\pm 2\%$).
- Bij een meetgoot van het type Khafagi, of van het type Parshall, worden resp. de L1 en L2 waarden en B en G waarden bepaald door een lat met T- of L-profiel of winkelhaak (Figuur 7 en 7 rode indicatie) tegen de rechte zijwand van de aanvoer- of afvoergoot te plaatsen; Figuur 7 en Figuur 8 blauwe indicatie) op de meetlat of rei bepalen de correcte waarden. Een lijklem kan zeker gebruikt worden om de lat of rei stabiel vast te maken.



Figuur 7: Opmeting L1 en L2 bij Venturi type Khafagi



Figuur 8: Opmeting B en G bij type Parshall [bron: VMM]

- Indien het in de praktijk door omstandigheden onmogelijk is om bepaalde afmetingen te meten, dient dit duidelijk genoteerd te worden op het meetblad.

-
- helling bodem kanaal in stromingsrichting tussen meetsectie en convergentie: max. 5 mm/m
 - helling bodem kanaal dwars op stromingsrichting tot meetsectie: 10 mm/m
 - helling bodem kanaal dwars op stromingsrichting tussen meetsectie en convergentie: 5 mm/m
 - afwijking keelwand van verticaliteit: 10 mm/m
 - afwijking kanaalwand van verticaliteit: 10 mm/m

5.1.2 TYPERING CONTROLE-INRICHTING

De gemeten maten worden vergeleken met de nominale maten van de betreffende controle-inrichting en de hierop toegelaten toleranties. Deze toleranties zijn per type inrichting opgelijst in de maattabellen van BIJLAGE A.

Zowel gemeten (werkelijke) als de nominale maten en toleranties hierop, worden gedocumenteerd in het meetverslag.

5.1.3 STAAT VAN DE OPEN CONTROLE-INRICHTING

De huidige staat van de controle-inrichting wordt nagegaan conform de checklijst bij de maattabellen in BIJLAGE A. Hiermee worden bepaalde eisen m.b.t. de meetconstructie, onderhoud, en omgevingsfactoren beperkt gecontroleerd opdat een goede debietsmeting in de open controle-inrichting kan uitgevoerd worden.

Afwijkingen op de meetconstructie (bijv. beschadigingen, niet volledig waterpas¹/horizontaal²/verticaal²,...) worden gedocumenteerd in het meetverslag.

5.1.4 OMGAAN MET AFWIJINGEN BIJ EEN OPEN CONTROLE-INRICHTING

Aangezien afwijkingen een belangrijke invloed uitoefenen op de debietmeting dienen ze te worden gerapporteerd aan VMM én vermeld op het verslag van de debietmeting.

Afwijkende maten kunnen aanleiding geven tot het uitsluiten van bepaalde (verkorte) berekeningsmethoden van hoogte naar debiet, of herberekeningen op basis van de gemeten (werkelijke) maten in plaats van de nominale maten. Raadpleeg hiervoor §5.3.

Afwijkingen op de meetconstructie (bv. afwijkende maten, beschadigingen, niet volledig horizontaal, afwijkingen op de algemene voorwaarden,...) geven geen aanleiding tot afkeuren van de controle-inrichting, maar moeten wel gedocumenteerd worden in het verslag van de debietmeting. Bij een niet-conforme eis wordt de invloed op de debietsmeting door de uitvoerder nagegaan: afwijkingen die aanleiding geven tot een lager debiet dan het werkelijk debiet zijn niet aanvaardbaar en worden voor de meting gemeld aan en/of overlegd met VMM.

5.2 PLAATSING DEBIETMEETSYSTEEM

Het debietmeetsysteem wordt geplaatst volgens de instructies van de leverancier, en rekening houdend met de specifieke plaatsingsinstructies voor open controle-inrichtingen in 5.2.1 (borrelbuis) of 5.2.2 (ultrasoon).

5.2.1 PLAATSING VAN HET BORRELBUISSYSTEEM

Een borrelbuis moet opgesteld worden op een plaats waar geen turbulentie is:

- bij een meetgoot wordt de borrelbuis, indien mogelijk, in het midden van de meetput van een controle-inrichting geplaatst. Indien er geen meetput aanwezig is, moet een ultrasoon systeem worden gebruikt. De debietmeting met borrelbuis mag nooit in de meetgoot, of in aan- of afvoerkanaal zelf uitgevoerd worden.
- bij een meetschot wordt de borrelbuis geplaatst waar het water vlak en rustig is en steeds buiten de kromming van het wegstromende water, stroomopwaarts van het meetschot, bij voorkeur op een afstand gelijk aan $2 \text{ à } 4 h_{\max}$ (met een maximum van 1 meter).

De borrelbuis wordt dusdanig geplaatst dat de onderkant van de buis zich steeds onder het nulniveau van de meetfunctie bevindt. De borrelbuis dient enkele cm boven de bodem gemonteerd te worden om de opstuwdruk in de buis mogelijk te maken (1-3 luchtballen per seconde), en loodrecht op het waterniveau.

De leidingen mogen geen lekken, condensatie en ijsvorming vertonen.

5.2.2 PLAATSING VAN HET ULTRASOON SYSTEEM

De sensor moet zodanig gemonteerd worden dat er zich geen belemmeringen bevinden tussen de sensor en het wateroppervlak. De sensor moet loodrecht en perfect horizontaal (waterpas) geplaatst worden op de waterspiegel met inachtneming van de minimaal voorgeschreven afstand ('blockafstand, meestal wordt deze nog vergroot met een veiligheidsafstand van meestal 100 mm; raadpleeg hiervoor de voorschriften van de leverancier van de sonde). Om de horizontale positie gedurende de periode van debietmeting te behouden moet de sensor aan een stevige, vaste constructie bevestigd worden.

De ingebouwde of externe temperatuursmeting (temperatuurscorrectie) moet beschermd worden tegen de invloed van direct zonlicht. De hoogtemeting is optimaal als de temperatuursmeting van de sonde niet meer dan 5°C afwijkt van de gemiddelde temperatuur tussen wateroppervlak en sonde.

De ultrasone meting mag niet beïnvloed worden door waterdamp of condensatie van het water. Indien er schuimvorming, onder de ultrasoonsensor optreedt, wordt de meting gestoord en moet een ander debietmeetsysteem geïnstalleerd worden.

Een ultrasoonsensor wordt als volgt opgesteld:

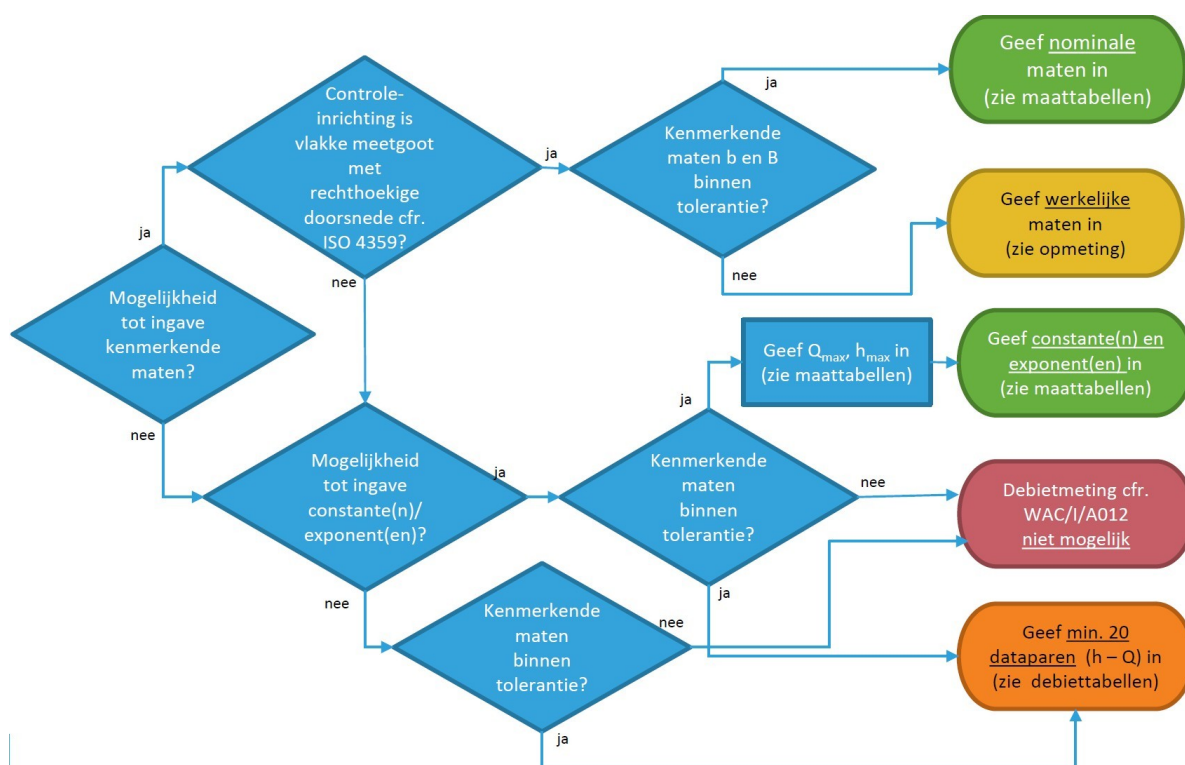
- bij meetgoten, wordt de ultrasoon sensor bij voorkeur bevestigd boven de meetput (indien deze aanwezig is), en anders boven het aanvoerkanaal op een afstand gelijk aan 3 à 4 $h_{\max}$ stroomopwaarts gemeten vanaf het begin van de vernauwing.
- bij de Parshall meetgoot wordt de sensor geplaatst op 2/3 van de schuine zijde stroomopwaarts vanaf de keel.
- bij een meetschot wordt de sensor geïnstalleerd buiten de kromming van het wegstromende water waar het vlak en rustig is, bij voorkeur op een afstand gelijk aan 2 à 4 $h_{\max}$.

5.3 DEBIETFORMULE

Voor elk type controle-inrichting bestaat er een omrekeningsformule om uit de gemeten waterhoogte het overeenkomstige debiet te berekenen. Deze omrekening is afhankelijk van het type (meetgoot of -schot) en de specifieke vorm/profiel en afmetingen van de meetinrichting, de watersnelheid in het aanvoerkanaal (snelheidscoëfficiënt) en de wrijvingsverliezen (debietscoëfficiënt). Voor meer informatie met betrekking tot de toe te passen formules, wordt verwezen naar BIJLAGE C.

Deze formules zijn ingebouwd in de debietmeters of in het registratietoestel, en de omrekening gebeurt automatisch. Bij de plaatsing van het debietmeetsysteem worden daarom de nodige parameters voor de omrekening ingegeven in het toestel. Sommige toestellen bieden een mogelijkheid om gebruik te maken van de uitgebreide formule (bijv. voor vlakke meetgoot conform ISO 4359) met ingave van de maten van de meetgoot, of via verkorte (vereenvoudigde) formules met ingave van een constante(n) en exponent(en). De in te geven parameters per type controle-inrichting kunnen teruggevonden worden in de maattabellen van BIJLAGE A ("debietformules").

De keuze-mogelijkheden voor het instellen van de debietformules zijn weergegeven in Figuur 9.



Figuur 9: Ingave parameters bij instelling van de debietmeter

De omrekeningsformules zijn niet geldig indien één of meerdere van de kenmerkende maten buiten de toleranties van de maattabellen vallen.

Voor *vlakke meetgoten met rechthoekige doorsnede* is er dat geval wel een mogelijkheid om de overeenkomstige debieten (debiets tabel) te **herberekenen** op basis van de gemeten (werkelijke maten) (0). Voor deze herberekening wordt verwezen naar de instructies in Bijlage C.1.1. De herberekende debiets tabel wordt in dat geval als bijlage toegevoegd aan het meetblad. Deze omrekening valt onder de verantwoordelijkheid van het bedrijf, maar kan ook uitgevoerd worden door het erkende laboratorium.

Voor andere controle-inrichtingen is geen herberekening mogelijk, en moet de verdere uitvoering van de debietmeting overlegd/besproken worden met VMM.

Indien het toestel niet toelaat om de omrekening van een bepaald type controle-inrichting via formule (uitgebreide of verkorte formule) in te stellen (bijv. minder courant type meetgoot), is interpolatie van debietwaarden op basis van ingegeven debiets tabellen (dataparen hoogte-debiet) toegelaten. Minimaal 20 dataparen gespreid tussen $h_{\min}$ en h_{overloop} van de controle-inrichting, met minstens 10 dataparen tussen 50 en 100% van $h_{\max}$, kunnen geselecteerd worden uit de overeenkomstige debiets tabel van de betreffende controle-inrichting (zie BIJLAGE B).

5.4 INSTELLING NULPUNT

Het nulpunt van het debietmeetsysteem wordt zodanig ingesteld dat de hoogte aangegeven op het display van de debietmeter overeenstemt met de werkelijke waterhoogte gemeten met een meetlat. In het ideale geval wordt dit gedaan als de meetgoot leeg is en komt het referentiepunt van de controle-inrichting overeen met nul.

Er zijn géén correcties voor het nulpunt toegestaan ingeval de controle-inrichting niet volledig leeg is bij nullozing (aanwezigheid van zogenaamd “standwater”). In geen geval mag het standwater in mindering gebracht worden bij het gemeten debiet.

Het referentiepunt van het nulpunt:

- voor meetgoten, met uitzondering van Parshall, is de het referentiepunt de bodem van de keel (zonder correctie voor niet-leeglopende goten);
- bij een Parshall meetgoot is het referentiepunt de bodem op een afstand $\frac{2}{3}$ van de schuine zijde stroomopwaarts vanaf de keel;
- voor een meetschot is dit de onderzijde van de uitsnijding (voor V-schot het puntje van de V-vormige uitsnijding).

Indien permanent water wordt geloosd is deze aanpak niet mogelijk en wordt de nul ingesteld zodanig dat de afgelezen hoogte overeen komt met de gemeten hoogte (5.5).

5.5 CONTROLE WATERHOOGTE

Het waterniveau (hoogte) wordt na instelling van het nulpunt gecontroleerd ten opzichte van het referentiepunt (5.3).

Doorgaans wordt dit uitgevoerd met behulp van een stevige dunne meetlat, die behandeld is met een speciale meetpasta (waterdetectiepasta) of met een wateroplosbare stift. Voor de grotere meetgoten zijn andere meetinstrumenten toegelaten (zelfde nauwkeurigheid).

- De meetlat wordt op de meetlocatie (zie hieronder) loodrecht, met de smalste zijde in de stroming geplaatst (niet dwars op de stroming). De actuele hoogte van het waterniveau wordt door de verkleurde pasta of opgeloste stiftindicatie aangegeven.
- Simultaan wordt het actuele waterniveau afgelezen van de debietmeter (mogelijk moet hiervoor een 2^e persoon aanwezig zijn), en wordt de afgelezen waarde (display debietmeter) vergeleken met de gemeten waarde (meetlat).

De toegestane afwijking tussen de gemeten en de afgelezen waarde is afhankelijk van het type controle-inrichting, en is vermeld in de debiettabellen in BIJLAGE B (“tolerantie h”). Pas de instellingen aan indien de afwijking tussen de gemeten en de afgelezen waarde groter is dan de toegestane tolerantie. Herhaal de controle van de waterhoogte tot deze conform is.

5.5.1 MEETLOCATIE VAN DE WATERHOOGTE BIJ EEN MEETGOOT

Bij een meetgoot met zijdelingse meetput wordt de hoogte gemeten *in het midden van het aanvoerkanaal, ter hoogte van het verbindingskanaal naar de meetput*.

Indien het verbindingstuk vlak is, er geen vervuiling in aanwezig is en essentieel zich op dezelfde hoogte als de goot bevindt, mag ook *in het verbindingskanaal* gemeten worden.

Opmerking:

Omdat de hoogte van het verbindingskanaal in praktijk kan afwijken van de referentiehoogte (door een gebrek aan installatie-eisen voor het verbindingskanaal), is het risico reëel dat er daardoor een verkeerde hoogte in de debietmeter ingegeven wordt. Anderzijds biedt het verbindingskanaal het voordeel dat er minder niveau-schommelingen zijn, en dat er door de meting geen obstructie van de waterstroom veroorzaakt wordt, wat een nauwkeurigere meting kan opleveren. Bij een hoogtemeting in verbindingskanaal dient steeds de hoogte in de goot zelf bijkomend gecontroleerd te worden om na te gaan of er een hoogteverschil is.

Indien er geen meetput is, wordt de hoogte bepaald op een *welbepaalde afstand in de controle-inrichting*:

- bij de meetgoten met vlakke bodem, en zonder zijdelingse meetput (ook Khafagi) wordt de waterhoogte gemeten op een afstand 3 à 4 x $h_{\max}$ stroomopwaarts van de vernauwing.
- bij een meetgoot met een paraboolvormige keeldoorsnede die niet voorzien is van een meetput, wordt op een afstand gelijk aan 2 à 4 x $h_{\max}$ (breedte van het aanvoerkanaal (A) van de vernauwing), ook weer stroomopwaarts, de hoogte gemeten.
- bij de Parshall meetgoot wordt de hoogte niet gemeten in het aanvoerkanaal maar in de vernauwing op het platvorm. Dit is in het convergerende gedeelte van de meetgoot en wel op een afstand 2/3 van de lengte van de schuine kant voor vernauwing (B) gemeten van het smalste gedeelte van de controle-inrichting stroomopwaarts in de goot.

5.5.2 MEETLOCATIE VAN DE WATERHOOGTE BIJ EEN MEETSCHOT

Bij een V-schot is het referentiepunt van het nulpunt de onderzijde van de V-vormige uitsnijing. De meetplaats voor de hoogte bevindt zich stroomopwaarts van het meetschot, buiten de kromming veroorzaakt door de uitstroming. Aangezien bij een meetschot de snelheid nul moet benaderen is er een ruime keuze voor de meetplaats. Er wordt afgesproken dat op een minimale afstand gelijk aan 3 x $h_{\max}$ stroomopwaarts van het meetschot wordt gemeten bij $h_{\max} < 20$ cm of voor nieuwe3 meetputten met meetschot, en op een afstand gelijk aan $1.5 \times h_{\max}$ bij $h_{\max} > 20$ cm (maximaal 1 m).

Opmerking:

De hoogte van het water mag nooit gemeten worden in de V (te laag wegens uitstroming) of tegen de wand (wandeffect).

Indien de controle-inrichting geen vaste voorziening voor de hoogtemeting heeft voorzien, moet hiervoor wordt een (los) meetapparaat gebruikt dat waterpas is (of waterpas kan worden gecontroleerd) en dat toestaat om de hoogte te meten: lijmklem, T-Lat, L-Lat, speciaal daarvoor ontwikkelde meetopstelling),....

6 REGISTRATIE VAN HET DEBIET

6.1 INSTELLEN REGISTRATIEOESTEL (PRINTER, LOGGER)

Het registratietoestel registreert continu het ogenblikkelijk debiet. Sluit het registratietoestel aan op het mA (milli-ampere) of pulssignaal van de debietmeter.

Controleer de gegevensoverdracht: datum, uur, ogenblikkelijk debiet overeenkomstig met de debietmeter (voor debietmeters met ingebouwde logger, is dit niet van toepassing).

6.2 WEERGAVE VAN HET DEBIET

Bij gebruik van het mA-signaal wordt het ogenblikkelijk debiet weergegeven in m^3/h .

Bij gebruik van het pulssignaal wordt het optellen van het aantal pulsen weergegeven. De pulsinstelling op de debietmeter en het registratietoestel dient hetzelfde te zijn.

³ Meetputten met meetschot die vanaf de publicatiedatum van de CvGP voor open controle-inrichtingen in gebruik genomen werden

6.2.1 OGENBLIKKELIJK DEBIET

De aflezing van het ogenblikkelijk debiet wordt afgerond op 2 cijfers na de komma. Het tijdstip van de aflezing wordt hierbij genoteerd.

6.2.2 TOTALE DEBIETEN

Bij heffingscampagnes moeten ook uur- en dagdebieten gerapporteerd worden.

Indien gebruik wordt gemaakt van het debietmeetsysteem van het bedrijf zelf is het mogelijk dat er geen uurdebieten voorhanden zijn; dagdebieten dienen echter steeds beschikbaar te zijn.

De registraties van de dagdebieten worden gecontroleerd of deze gelegen zijn tussen de gestelde $h_{\min}$ en $h_{\max}$ van de controle-inrichting. Indien metingen lager dan $h_{\min}$ of hoger dan $h_{\max}$ waargenomen worden, moet er worden nagegaan welk percentage van het dagdebiet van de campagne lager lag dan $h_{\min}$ en hoger dan $h_{\max}$. Het percentage wordt berekend op basis van de uurdebieten. Voor deze berekening kan bijv. gebruikt gemaakt worden van het rekenblad in BIJLAGE E.

Het begin- en eindtijdstip van elke meetperiode of meetcyclus wordt genoteerd.

7 VERZEGELING

In het kader van heffingscampagnes is het vereist dat alle onderdelen van het debietmeet- en registratiesysteem, en bijhorende klemmen, verzegeld worden zodat de debietmeting niet beïnvloed kan worden.

8 RAPPORTERING

Een meetverslag wordt opgemaakt conform WAC/VI/A/004, en moet bijkomend volgende gegevens bevatten:

- Meetblad met typering, gemeten en nominale maten incl. toleranties, staat van de controle-inrichting;
- Aan-/afwezigheid van het technisch dossier van de controle-inrichting;
- Datum en uur van de meetperiode en/of -cycli;
- $h_{\min}$ en $h_{\max}$ of $Q_{\min}$ - $Q_{\max}$ van de open of gesloten controle-inrichting + % debiet dat buiten $h_{\min}$ en $h_{\max}$ waargenomen werden tijdens de meetperiode;
- Ogenblikkelijk debiet en kwaliteitscontrole(s) voor gesloten (9.1) en open (9.2.1, 9.2.2) controle-inrichtingen;
- Overzicht uurdebieten (m^3/h) en dagdebieten (m^3/dag)
- Mogelijke afwijkingen

9 KWALITEITSCONTROLE

9.1 GESLOTEN CONTROLE-INRICHTING

Het laboratorium vraagt voor aanvang van de debietmeting bij het bedrijf een kopie op van een geldige kwaliteitscontrole cfr. de CvGP van de gebruikte debietmeter^a. De aan-/of afwezigheid van een geldige kwaliteitscontrole en de datum van uitvoering ervan, wordt door het erkend laboratorium gerapporteerd.

9.2 OPEN CONTROLE-INRICHTING

9.2.1 CONTROLE VAN DE ACTUELE T.O.V. DE GEMETEN WATERHOOGTE

De hoogtemeting van de debietmeter **in een open controle-inrichting** moet regelmatig gecontroleerd worden ten opzichte van de gemeten waterhoogte vanaf de bodem van de meetinrichting (zie 5.5).

In het kader van heffingscampagnes moet dit bij elke meetdag van de monsternamecampagne uitgevoerd worden. Indien er geen lozing (bijv. batch-lozing, nullozing) is op het moment van de deze controle, moet dit gedocumenteerd. Binnen een 3-daagse meetcampagne moet er tenminste één controle (verschillend van de controle bij instelling) uitgevoerd worden, en bij een 5-daagse campagne minstens 2 controles. Vraag eventueel aan de exploitant informatie omtrent de lozingsuren of de mogelijkheid om een lozing op gang te brengen. Afwijkingen hiervan worden geregistreerd, gerapporteerd en gemotiveerd.

Het hoogteverschil tussen de reële waterhoogte en de afgelezen waarde op de debietsmeter mag niet meer bedragen dan de toegestane tolerantie op de waterhoogte. Deze toegestane tolerantie is afhankelijk van de grootte van de controle-inrichting, en is per inrichting vermeld in de debiettabellen in BIJLAGE B ("tolerantie h"). Indien het verschil tussen de gemeten en de afgelezen hoogte meer dan de toegestane tolerantie bedraagt, worden de instellingen van de debietsmeter gecontroleerd en desgevallend aangepast. Er wordt onmiddellijk een nieuwe controle uitgevoerd. Mogelijke aanpassingen van de instellingen wordt gedocumenteerd op het meetblad. Indien de afwijking na (her)controle(s) nog steeds buiten de toegestane tolerantie valt, dient de VMM op de hoogte gebracht te worden.

9.2.2 CONTROLE VAN DE OMREKENING VAN DE HOOGTEMETING NAAR DEBIET DOOR DE DEBIETMETER

Controleer voor aanvang van de debietmeting de omrekening van afgelezen debiet op de debietmeter ten opzichte van het berekende (theoretische) debiet o.b.v. de afgelezen waterhoogte in 9.2.1. Gebruik de overeenkomstige debiettabel (BIJLAGE B of herberekende tabel voor vlakke meetgoot met rechthoekige doorsnede met afwijkende kenmerkende maten) om het berekende (theoretische) debiet te bepalen.

De afwijking tussen het theoretisch en het afgelezen debiet mag maximaal 2% bedragen.

Indien de afwijking meer bedraagt, worden de instellingen nagegaan alvorens een nieuwe controle van de omrekening uit te voeren. Aanpassingen aan de instellingen van de debietmeter moeten geregistreerd worden.

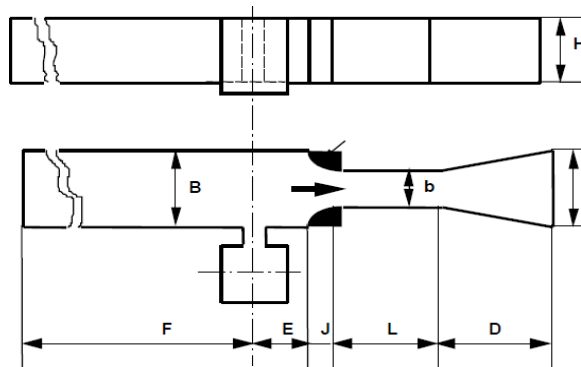
9.2.3 CONTROLE VAN DE LINEARITEIT

De debietmeter wordt bij indienstelling gecontroleerd ten opzichte van een opstelling met gekende waterhoogte (opstelling met vaste meetlat). Er worden minimaal 5 waterhoogtes gecontroleerd, waaronder ook lage hoogtes (<20 mm). Noteer de gemeten hoogte op de debietmeter en de afgelezen hoogte op de meetlat. De afwijking mag niet meer dan toegestane tolerantie op de waterhoogte bedragen, zie debiettabellen in BIJLAGE B ("tolerantie h").

10 REFERENTIES

- α. Code van goede praktijk voor installatie, onderhoud en controle van elektromagnetische debietmeting van afvalwater in gesloten systemen, 2016, VITO i.o.v. het Departement Leefmilieu, Natuur en Energie (2016/REE/R/021), https://emis.vito.be/nl/CvGP_afvalwater
- β. Code van goede praktijk voor installatie, onderhoud en controle van een open controle-inrichting voor debietmeting van afvalwater, 2018, VITO-studie i.o.v. het Departement Omgeving (2018/REE/R/02), https://emis.vito.be/nl/CvGP_afvalwater
- χ. Titel II van het VLAREM, Bijlage 4.2.5.1. Controle-inrichting voor lozingen van afvalwaters (artikel 4.2.5.1.1. van titel II van het VLAREM)
- δ. WAC/I/A/004 - Algemeen - Monsterneming en voorbehandeling - Procedure voor het nemen van een verzamelmonster
- ε. WAC/VI/A/004 - Validatie - Voorwaarden voor rapportering van monsternamingsgegevens en analyseresultaten door een erkend laboratorium
- φ. ISO 9104:1991, Measurement of fluid flow in closed conduits- Methods of evaluating the
- γ. performance of electromagnetic flow-meters for liquids
- η. ISO 6817:1992, Measurement of conductive liquid flow in closed conduits - Method using electromagnetic flowmeters
- ι. ISO 1438:2008, Hydrometry - Open channels flow measurements
- φ. ISO 4359:2013, Flow measurement structures - Rectangular, trapezoidal and U-shaped flumes
- κ. ISO 9826:1992, Measurement of liquid flow in open channels - Parshall and Sanirii flumes
- λ. NBN ISO 4373:2008, Hydrometry -- Water level measuring devices
- μ. NBN EN ISO 772:2011, Hydrometry -- Vocabulary and symbols
- ν. Kritische kijk op debietformules voor venturi meetgoten met rechthoekige keeldoorsnede (ISO - VLAREM), Water, januari 2003, ir. Gert Luyckx (K.U.Leuven, Laboratorium voor Hydraulica)
- ο. Technischel fiche "Open venturi kanalen VKP constructie C.R.A. nv", CRA
- π. Technical information, TI 372D.01/14/en/10.94, Khafagi-Venturi flumes QV 302... QV 316 - Flowrate measuring in open channels, Endress+Hauser
- θ. Technische fiche "CANAUX VENTURI", Hydrologic
- ρ. Etude hydraulique des canaux Venturi Hydrologic, M. Dufresne, J. Vazquez, M. Fischer, Ecole Nationale du Genie de l'eau et de l'environnement de Strasbourg (ENGEE), 2013
- σ. Afvalwater, meet- en regeltechniek, Endress+Hauser, uitgave 1995

BIJLAGE A: MAAT- EN TYPERINGSTABELLEN OPEN CONTROLE-INRICHTINGEN



J / N	bodem van de keel waterpas
J / N	wanden van de keel loodrecht
J / N	wanden van de keel evenwijdig
J / N	bodem van aanvoerkanaal waterpas
J / N	wanden van aanvoerkanaal loodrecht
J / N	wanden van aanvoerkanaal evenwijdig
J / N	leeglopen bij nuldebiet
J / N	aanstroomsnelheid vlak
J / N	zijdelingse meetkamer aanwezig

Meetgoot met vlakke bodem: maten

B	b	L	F	E	D	J	H

CRA: toleranties maten											
TYPE	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
maat	30 m³/h (mm)	60 m³/h (mm)	90 m³/h (mm)	180 m³/h (mm)	360 m³/h (mm)	720 m³/h (mm)	1080 m³/h (mm)	1440 m³/h (mm)	1800 m³/h (mm)	3600 m³/h (mm)	7200 m³/h (mm)
b	min (b-2%) 73	98	122	196	245	261	326	470	548	705	882
	75	100	125	200	250	267	333	480	560	720	900
	max (b+2%) 77	102	128	204	255	273	340	490	572	735	918
B	min (B-2%) 147	196	245	392	490	392	490	784	784	1176	1470
	150	200	250	400	500	400	500	800	800	1200	1500
	max (B+2%) 153	204	255	408	510	408	510	816	816	1224	1530
L	min (L-5%) 285	356	427	570	712	769	997	855	1140	1235	1710
	300	375	450	600	750	810	1050	900	1200	1300	1800
	max (L+5%) 315	394	473	630	788	851	1103	945	1260	1365	1890
H	min (H-5%) 190	237	285	380	475	593	665	760	760	1140	1425
	200	250	300	400	500	625	700	800	800	1200	1500
	max (H+5%) 210	263	315	420	525	657	735	840	840	1260	1575
D	min (D-5%) 213	285	356	570	712	380	475	912	684	1368	1710
	225	300	375	600	750	400	500	960	720	1440	1800
	max (D+5%) 237	309	394	630	788	420	525	1008	756	1512	1890
E	min (E-5%) 213	230	247	270	494	1045	1235	1235	1235	1615	2185
	225	243	260	285	520	1100	1300	1300	1300	1700	2300
	max (E+5%) 237	256	273	300	546	1155	1365	1365	1365	1785	2415
F	min (F-5%) 1425	1900	2375	3800	4750	3800	4750	7600	7600	11400	14250
	1500	2000	2500	4000	5000	4000	5000	8000	8000	12000	15000
	max (F+5%) 1575	2100	2625	4200	5250	4200	5250	8400	8400	12600	15750
J	min (J-5%) 95	125	156	251	313	167	209	401	301	603	754
	100	132	165	265	330	176	221	423	317	635	794
	max (J+5%) 105	139	174	279	347	185	233	445	333	667	834

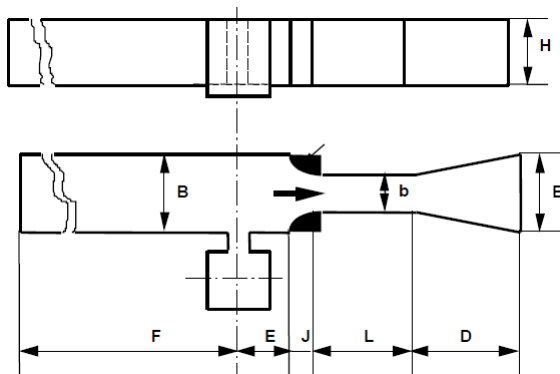
CRA: toepassingsgebied											
TYPE	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
	30 m³/h	60 m³/h	90 m³/h	180 m³/h	360 m³/h	720 m³/h	1080 m³/h	1440 m³/h	1800 m³/h	3600 m³/h	7200 m³/h
h_{min} (m)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
h_{max} (m)	0.16	0.21	0.24	0.27	0.37	0.54	0.61	0.59	0.60	0.83	1.14
$h_{overloop}$ (m)	0.20	0.25	0.30	0.40	0.50	0.625	0.70	0.80	0.80	1.20	1.5
Q_{min} (m³/h)	5.2	6.9	8.6	14	16	19	23	33	39	47	56
Q_{max} (m³/h)	30	60	90	180	360	720	1080	1440	1800	3600	7200

CRA: vereenvoudigde debietformules*											
TYPE	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Q_{VLAREM}	30 m³/h	60 m³/h	90 m³/h	180 m³/h	360 m³/h	720 m³/h	1080 m³/h	1440 m³/h	1800 m³/h	3600 m³/h	7200 m³/h
Coëfficiënten**											
k	0.132	0.177	0.217	0.352	0.442	0.499	0.623	0.881	1.065	1.322	1.6509
u (exp)	200	700	58	173	932	057	700	60	186	276	9
Q_{max} **	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	38	72	120	300	520	660	1200	1400	2520	3600	7200

* enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan toleranties

bron: Kritische kijk op debietformules voor venturi meetgoten met rechthoekige keeldoorsnede (ISO - VLAREM), Water, januari 2003, ir. Gert Luyckx (K.U.Leuven, Laboratorium

**
voor Hydraulica)



J / N	bodem van de keel waterpas
J / N	wanden van de keel loodrecht
J / N	wanden van de keel evenwijdig
J / N	bodem van aanvoerkanaal waterpas
J / N	wanden van aanvoerkanaal loodrecht
J / N	wanden van aanvoerkanaal evenwijdig
J / N	leeglopen bij nuldebiet
J / N	aanstroomsnelheid vlak
J / N	zijdelingse meetkamer aanwezig

Meetgoot met vlakke bodem: maten

B	b	L	F	E	D	J	H

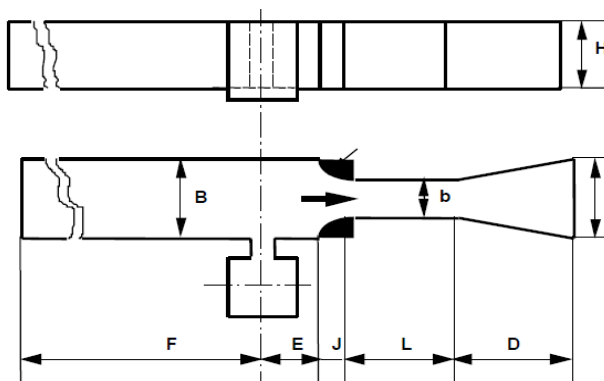
ARKON Z1561: maten									
T Y P E m a t	50 l/s (mm)	100 l/s (mm)	200 l/s (mm)	300 l/s (mm)	400 l/s (mm)	500 l/s (mm)	800 l/s (mm)	1000 l/s (mm)	1500 l/s (mm)
min (b-2%)	130	196	261	326	358	424	522	588	653
b	133	200	267	333	366	433	533	600	667
max (b+2%)	136	204	273	340	374	442	544	612	681
min (B-2%)	196	294	392	490	539	637	784	882	980
B	200	300	400	500	550	650	800	900	1000
max (B+2%)	204	306	408	510	561	663	816	918	1020
min (L-5%)	489	593	769	855	997	1045	1235	1425	1615
L	515	625	810	900	1050	1100	1300	1500	1700
max (L+5%)	541	657	851	945	1103	1155	1365	1575	1785
min (H-5%)	380	451	593	688	760	807	950	1073	1235
H	400	475	625	725	800	850	1000	1130	1300
max (H+5%)	420	499	657	762	840	893	1050	1187	1365
min (D-5%)	190	285	380	475	522	617	760	855	950
D	200	300	400	500	550	650	800	900	1000
max (D+5%)	210	315	420	525	578	683	840	945	1050
min (E-5%)	190	285	380	475	522	617	760	855	950
E	200	300	400	500	550	650	800	900	1000
max (E+5%)	210	315	420	525	578	683	840	945	1050
min (F-5%)	1900	2850	3800	4750	5225	6175	7600	8550	9500
F	2000	3000	4000	5000	5500	6500	8000	9000	10000
max (F+5%)	2100	3150	4200	5250	5775	6825	8400	9450	10500
min (J-5%)	79	125	167	209	230	272	335	377	418
J	84	132	176	221	243	287	353	397	441
max (J+5%)	89	139	185	233	256	302	371	417	464

ARKON Z1561: toepassingsgebied									
TYPE	50 l/s	100 l/s	200 l/s	300 l/s	400 l/s	500 l/s	800 l/s	1000 l/s	1500 l/s
h_{min} (m)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
h_{max} (m)	0.34	0.42	0.54	0.60	0.70	0.73	0.87	1.0	1.1
$h_{overloop}$ (m)	0.40	0.48	0.63	0.73	0.80	0.85	1.00	1.1	1.3
Q_{min} (m³/h)	9.1	14	19	23	25	30	36	40	43
Q_{max} (m³/h)	180	360	720	1080	1440	1800	2880	3960	5400

ARKON Z1561: vereenvoudigde debietformules*									
T Y P E	50 l/s	100 l/s	200 l/s	300 l/s	400 l/s	500 l/s	800 l/s	1000 l/s	1500 l/s
Coëfficiënten**									
k	0.2506	0.3781	0.5039	0.6285	0.6890	0.816	1.0041	1.128	1.253
u (exp)	32	41	65	65	87	652	40	765	008
	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51

* enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan toleranties

** bron: Aquafin



J / N	bodem van de keel waterpas
J / N	wanden van de keel loodrecht
J / N	wanden van de keel evenwijdig
J / N	bodem van aanvoerkanaal waterpas
J / N	wanden van aanvoerkanaal loodrecht
J / N	wanden van aanvoerkanaal evenwijdig
J / N	leeglopen bij nuldebiet
J / N	aanstroomsnelheid vlak
J / N	zijdelingse meetkamer aanwezig

Meetgoot met vlakke bodem: maten

B	b	L	F	E	D	J

ARKON Z1458: maten						
T Y P E m a a t	2,5 l/s (mm)	5 - 10 l/s (mm)	25 l/s (mm)	50 - 100 l/s (mm)	250 l/s (mm)	500 - 1000 l/s (mm)
b	min (b-2%)	74	99	174	298	746
	max (b+2%)	76	102	178	305	762
B	min (B-2%)	78	105	182	311	778
	max (B+2%)	78	105	182	311	778
B	min (B-2%)	148	224	373	597	1493
	max (B+2%)	152	229	381	610	1524
L	min (L-5%)	156	234	389	622	1555
	max (L+5%)	156	234	389	622	1555
L	min (L-5%)	144	241	338	579	1447
	max (L+5%)	152	254	356	610	1524
H	min (H-5%)	160	267	374	641	1601
	max (H+5%)	96	181	253	406	965
H	min (H-5%)	102	191	267	406	1016
	max (H+5%)	108	201	281	427	1067
D	min (D-5%)	217	361	579	869	2171
	max (D+5%)	229	381	610	915	2286
D	min (D-5%)	217	361	579	869	2171
	max (D+5%)	241	401	641	961	2401
E	min (E-5%)	144	217	361	579	1447
	max (E+5%)	152	229	381	610	1524
E	min (E-5%)	144	217	361	579	1447
	max (E+5%)	160	241	401	641	1601
F	min (F-5%)	1425	2185	3610	5795	14440
	max (F+5%)	1500	2300	3800	6100	15200
F	min (F-5%)	1425	2185	3610	5795	14440
	max (F+5%)	1575	2415	3990	6405	15960
J	min (J-5%)	96	156	253	406	952
	max (J+5%)	102	165	267	407	1003
J	min (J-5%)	108	174	281	428	1054
	max (J+5%)	108	174	281	428	1054

ARKON Z1458: toepassingsgebied						
T Y P E	2,5 l/s	5 - 10 l/s	25 l/s	50 - 100 l/s	250 l/s	500 - 1000 l/s
h _{min} (m)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

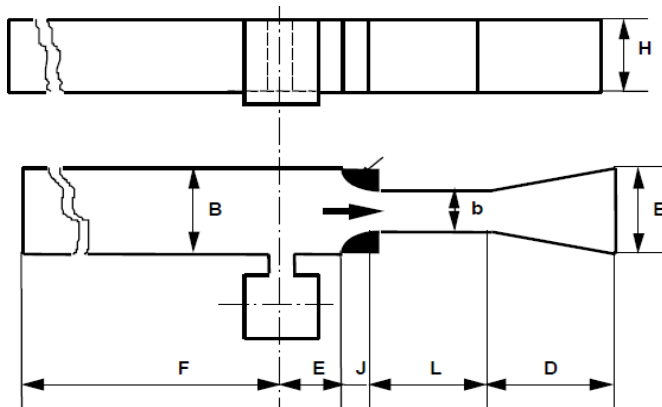
$h_{\max}$ (m)	0.07	0.15	0.19	0.33	0.46	0.82
h_{overloop} (m)	0.10	0.19	0.27	0.41	0.64	1.02
$Q_{\min}$ (m ³ /h)	5.4	7.1	12	21	30	48
$Q_{\max}$ (m ³ /h)	9	36	90	360	900	3600

ARKON Z1458: vereenvoudigde debietformules*						
T Y P E	2,5 l/s	5 - 10 l/s	25 l/s	50 - 100 l/s	250 l/s	500 - 1000 l/s***
Vlarem-coëfficiënten** k	0.13 48	0.17 83	0.31 34	0.5417 1.5	0.81 11	1.355249 1.52
u (exp)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.52
$Q_{\max}$ **	14.4	42	120	480	1300	-

* enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan toleranties

** bron: Kritische kijk op debietformules voor venturi meetgoten met rechthoekige keeldoorsnede (ISO - VLAREM), Water, januari 2003, ir. Gert Luyckx (K.U.Leuven, Laboratorium voor Hydraulica)

*** bron: Aquafin



J / N	bodem van de keel waterpas
J / N	wanden van de keel loodrecht
J / N	wanden van de keel evenwijdig
J / N	bodem van aanvoerkanaal waterpas
J / N	wanden van aanvoerkanaal loodrecht
J / N	wanden van aanvoerkanaal evenwijdig
J / N	leeglopen bij nuldebiet
J / N	aanstroomsnelheid vlak
J / N	zijdelingse meetkamer aanwezig

Meetgoot met vlakke bodem: maten

B	b	L	F	E	D	J

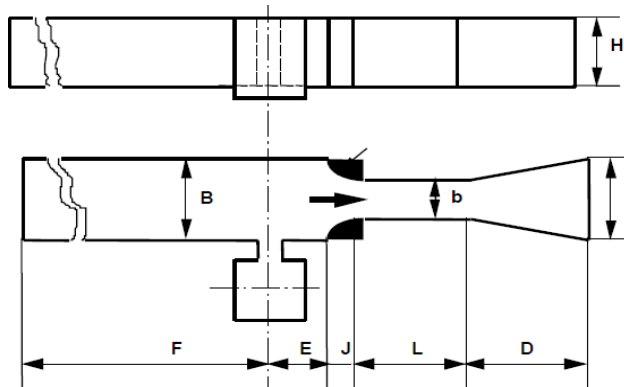
OCK-P: maten					
T Y P E	OCK-P- 50 (mm)	OCK-P- 100 (mm)	OCK- P-250 (mm)	OCK-P- 500 (mm)	OCK-P- 1000 (mm)
min (b-2%)	298	298	447	746	746
b	305	305	457	762	762
max (b+2%)	312	312	467	778	778
min (B-2%)	597	597	896	1493	1493
B	610	610	915	1524	1524
max (B+2%)	623	623	934	1555	1555
min (L-5%)	579	579	869	1447	1447
L	610	610	915	1524	1524
max (L+5%)	641	641	961	1601	1601
min (H-5%)	385	385	603	965	965
H	406	406	635	1016	1016
max (H+5%)	427	427	667	1067	1067
min (D-5%)	869	869	1303	2171	2171
D	915	915	1372	2286	2286
max (D+5%)	961	961	1441	2401	2401
min (E-5%)	579	579	869	1447	1447
E	610	610	915	1524	1524
max (E+5%)	641	641	961	1601	1601
min (F-5%)	3800	6175	8740	10925	15200
F	4000	6500	9200	11500	16000
max (F+5%)	4200	6825	9660	12075	16800
min (J-5%)	386	386	579	1447	1447
J	407	407	610	1524	1524
max (J+5%)	428	428	641	1601	1601

OCK-P: toepassingsgebied					
TYPE	OCK-P- 50	OCK-P- 100	OCK- P-250	OCK-P- 500	OCK-P- 1000
$h_{\min}$ (m)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
$h_{\max}$ (m)	0.21	0.33	0.46	0.52	0.82
h_{overloop} (m)	0.41	0.41	0.64	1.02	1.02
$Q_{\min}$ (m³/h)	21	21	30	48	48
$Q_{\max}$ (m³/h)	180	360	900	1800	3600

OCK-P: vereenvoudigde debietformules*					
T Y P E	OCK-P- 50	OCK-P- 100	OCK-P- 250	OCK-P- 500	OCK-P- 1000
Vlaar-coëfficiënten**					
k	0.5417	0.5	0.811	1.35524	1.35524
u (exp)	1.5	41 7	1	9***	9***
		1.5	1.5	1.52***	1.52***

*

- ** enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan controle-eisen
- *** bron: Kritische kijk op debietformules voor venturi meetgoten met rechthoekige keeldoorsnede (ISO – VLAREM), Water, januari 2003, ir. Gert Luyckx (K.U.Leuven, Laboratorium voor Hydraulica)
bron: Aquafin



J / N	bodem van de keel waterpas
J / N	wanden van de keel loodrecht
J / N	wanden van de keel evenwijdig
J / N	bodem van aanvoerkanaal waterpas
J / N	wanden van aanvoerkanaal loodrecht
J / N	wanden van aanvoerkanaal evenwijdig
J / N	leeglopen bij nuldebiet
J / N	aanstroomsnelheid vlak
J / N	zijdelingse meetkamer aanwezig

Meetgoot met vlakke bodem: maten

B	b	L	F	E	D	J	H

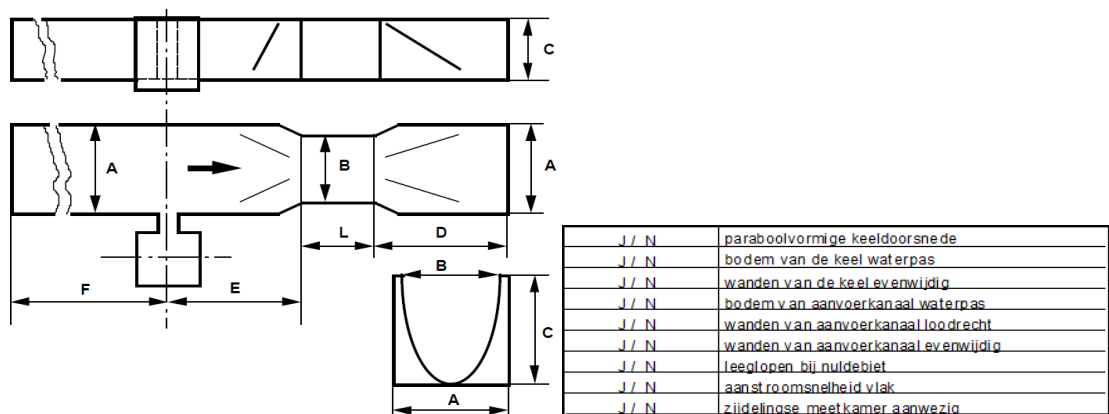
FISCHER&PORTER: maten									
T Y P E m a a t	50 l/s (mm)	100 l/s (mm)	200 l/s (mm)	300 l/s (mm)	430 l/s (mm)	540 l/s (mm)	800 l/s (mm)	1100 l/s (mm)	1500 l/s (mm)
min (b-2%) b max (b+2%)	130 133 136	196 200 204	261 267 273	326 333 340	392 400 408	457 467 477	522 533 544	588 600 612	653 667 681
min (B-2%) B max (B+2%)	196 200 204	294 300 306	392 400 408	490 500 510	588 600 612	686 700 714	784 800 816	882 900 918	980 1000 1020
min (L-5%) L max (L+5%)	489 515 541	589 620 651	769 810 851	855 900 945	983 1035 1087	1026 1080 1134	1225 1290 1355	1401 1475 1549	1605 1690 1775
min (H-5%) H max (H+5%)	380 400 420	451 475 499	593 625 657	688 725 762	760 800 840	807 850 893	950 1000 1050	1073 1130 1187	1235 1300 1365
min (D-5%) D max (D+5%)	190 200 210	285 300 315	380 400 420	475 500 525	570 600 630	665 700 735	760 800 840	855 900 945	950 1000 1050
min ((E+F)-5%) E+F max ((E+F)+5%)	2137 2250 2363	2850 3000 3150	3800 4000 4200	4750 5000 5250	5700 6000 6300	6650 7000 7350	7600 8000 8400	8550 9000 9450	9500 10000 10500
min (J-5%) J max (J+5%)	79 84 89	125 132 139	167 176 185	209 221 233	251 265 279	292 308 324	335 353 371	377 397 417	418 441 464

FISCHER&PORTER: toepassingsgebied									
T Y P E	50 l/s	100 l/s	200 l/s	300 l/s	430 l/s	540 l/s	800 l/s	1100 l/s	1500 l/s
$h_{\min}$ (m)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
$h_{\max}$ (m)	0.34	0.41	0.54	0.61	0.69	0.721	0.86	0.98	1.13
h_{verloop} (m)	0.40	0.48	0.63	0.73	0.80	0.85	1.00	1.13	1.30
$Q_{\min}$ (m³/h)	9.6	14	19	23	28	32	36	40	43
$Q_{\max}$ (m³/h)	180	360	720	1080	1548	1944	2880	3960	5400

FISCHER&PORTER: vereenvoudigde debietformules*									
TYPE	50 l/s	100 l/s	200 l/s	300 l/s	430 l/s	540 l/s	800 l/s	1100 l/s	1500 l/s
Coëfficiënt									
en**	0.25	0.37	0.50394	0.62	0.75	0.88	1.00	1.12	1.25
k	0632	8216	6	8565	4832	2454	4400	915	3187
u (exp)	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51

* enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan controle-eisen

** bron: Aquafin



Meetgoot met parabolische doorsnede: maten

A	B	C	D	E	F	L

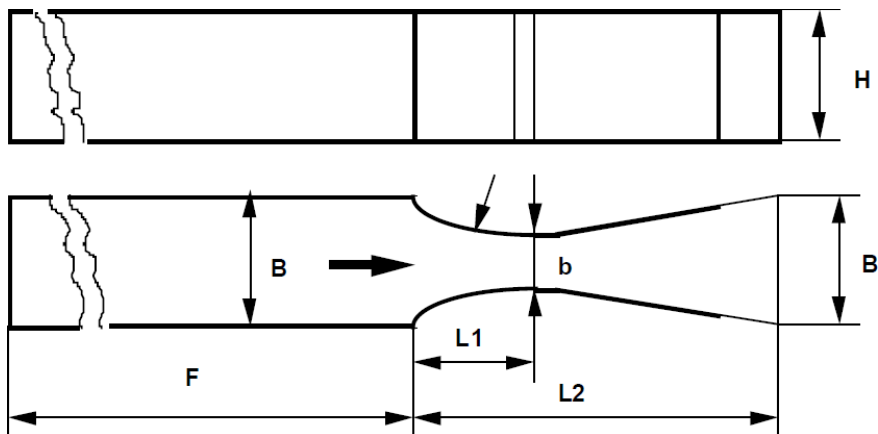
parabool: maten							
T Y P E m a a t	P I (mm)	P I I (m m)	PIII (m m)	P I V (m m)	P V (m m)	P V I (m m)	P VII (mm)
A	min (b-2%)	88	127	186	411	539	715
		90	130	190	420	550	730
	max (b+2%)	92	133	194	429	561	745
B	min (B-2%)	71	100	147	330	438	576
		73	103	151	337	447	588
	max (B+2%)	75	106	155	344	456	600
C	min (L-5%)	190	237	294	437	570	760
		200	250	310	460	600	800
	max (L+5%)	210	263	326	483	630	840
D	min (D-5%)	213	308	451	1026	1282	1710
		225	325	475	1080	1350	1800
	max (D+5%)	237	342	499	1134	1418	1890
E	min (E-5%)	159	230	337	495	744	974
		168	243	355	522	784	1026
	max (E+5%)	177	256	373	549	824	1078
F	min (F-5%)	1900	2375	2850	3325	4275	5700
		2000	2500	3000	3500	4500	6000
	max (F+5%)	2100	2625	3150	3675	4725	6300
L	min (L-5%)	66	95	142	209	323	427
		70	100	150	220	340	450
	max (L+5%)	74	105	158	231	357	473

parabool: toepassingsgebied							
T Y P E	P I	P II	PIII	P IV	P V	P VI	P VII
$h_{\min}$ (m)	0.021	0.028	0.03 3	0.04 2	0.04 7	0.06 1	0.0 82
$h_{\max}$ (m)	0.16	0.20	0.27	0.34	0.42	0.55	0.7 2
h_{overloop} (m)	0.20	0.25	0.31	0.38	0.46	0.60	0.8 0
$Q_{\min}$ (m³/h)**	0.21	0.43	0.9	1.8	3.6	7.2	14. 4
$Q_{\max}$ (m³/h)**	20	40	90	180	360	720	140 0

parabool: debietformule* $Q \text{ [m}^3/\text{h]} = C * h^{\text{exp}}_{\text{[m]}} * 3600$							
TYPE	P I	P II	PIII	P IV	P V	P VI	P VII
Coëfficiënt							
en**	0.3	0.44	0.46	0.54	0.61	0.71	0.7
C	988	187	362	419	851	726	715
exponent	2.3	2.3	2.2	2.2	2.1	2.1	2.1

* enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan controle-eisen

** bron: CRA



J / N	bodem van de keel waterpas
J / N	wanden van de keel loodrecht
J / N	wanden van de keel evenwijdig
J / N	bodem van aanvoerkanaal waterpas
J / N	wanden van aanvoerkanaal loodrecht
J / N	wanden van aanvoerkanaal evenwijdig
J / N	leeg lopen bij nuldebiet
J / N	aanstroomsnelheid vlak
J / N	zijdelijnde meetkamer aanwezig

Meetgoot Khafagi: maten

B	b	L	L	F	H
		1	2		

Kafhagi QV: maten (mm)									
T Y P E	QV302 10 l/s 36 m³/h	QV303 25 l/s 90 m³/h	QV304 50 l/s 180 m³/h	QV305 75 l/s 270 m³/h	QV306 100 l/s 3600 m³/h	QV308 250 l/s 900 m³/h	QV310 500 l/s 1800 m³/h	QV313 800 l/s 2880 m³/h	QV316 1500 l/s 5400 m³/h
b <i>min (b-2%)</i> <i>max (b+2%)</i>	48 47 49	117 120 123	156 160 164	196 200 204	235 240 245	313 320 327	392 400 408	509 520 531	627 640 653
B <i>min (B-2%)</i> <i>max (B+2%)</i>	120 117 123	294 300 306	392 400 408	490 500 510	588 600 612	784 800 816	980 1000 1020	1274 1300 1326	1568 1600 1632
L 1 <i>min (L1-5%)</i> <i>max (L1+5%)</i>	120 114 126	285 300 315	380 400 420	475 500 525	570 600 630	760 800 840	950 1000 1050	1235 1300 1365	1520 1600 1680
L 2 <i>min (L2-5%)</i> <i>max (L2+5%)</i>	420 399 441	997 1050 1103	1330 1400 1470	1662 1750 1838	1995 2100 2205	2660 2800 2940	3325 3500 3675	4322 4550 4778	5320 5600 5880
F <i>min (F-5%)</i> <i>max (F+5%)</i>	950 902 998	2660 2800 2940	3420 3600 3780	4560 4800 5040	5225 5500 5775	7410 7800 8190	9500 10000 10500	11400 12000 12600	13300 14000 14700
H <i>min (H-5%)</i> <i>max (H+5%)</i>	300 285 315	285 300 308	380 400 410	427 450 462	427 450 462	636 670 687	826 870 892	969 1020 1046	1254 1320 1353

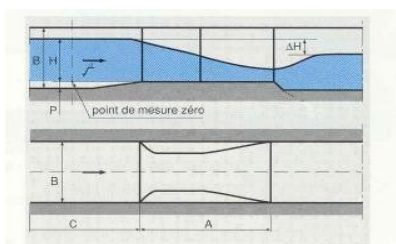
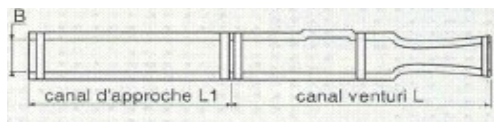
	5								

Khafagi QV: toepassingsgebied									
T Y P E	QV302	QV303	QV304	QV305	QV306	QV308	QV310	QV313	QV316
$h_{min} (m)$	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
$h_{max} (m)^{**}$	0.17	0.25	0.35	0.38	0.40	0.60	0.80	0.95	1.25
$Q_{min} (m^3/h)$	4	9	11	14	17	23	28	37	45
$Q_{max} (m^3/h)^{**}$	25	105	230	320	410	1025	1980	3300	6200

Kafhagi QV: debietformule $Q_{[m^3/h]} = c_1 \cdot b_{[m]} \cdot h^{1.5}_{[m]} + h^{2.5}_{[m]}$									
TYPE	QV302 10 l/s 36 m³/h	QV303 25 l/s 90 m³/h	QV304 50 l/s 180 m³/h	QV305 75 l/s 270 m³/h	QV306 100 l/s 360 m³/h	QV308 250 l/s 900 m³/h	QV310 500 l/s 1800 m³/h	QV313 800 l/s 2880 m³/h	QV316 1500 l/s 5400 m³/h
Coëfficiënte n^{**}									
c_1	0.0174 4	0.0174 4	0.0174 4	0.0 174 4	0.0174 4	0.0174 4	0.0 174 4	0.0174 4	0.0174 4
γ	0.0009 1	0.0009 1	0.0009 1	0.0 009 1	0.0009 1	0.0009 1	0.0 009 1	0.0009 1	0.0009 1

* enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan controle-eisen

** bron: Endress+Hauser



J / N	bodem van de keel waterpas
J / N	vanden van de keel loodrecht
J / N	vanden van de keel evenwijdig
J / N	bodem van aanvoerkanaal waterpas
J / N	vanden van aanvoerkanaal loodrecht
J / N	vanden van aanvoerkanaal evenwijdig
J / N	leeg lopen bij nuldebiet
J / N	aanstroomsnelheid vlak
J / N	zijdelingse meetkamer aanwezig

B	L	L	H
		1	

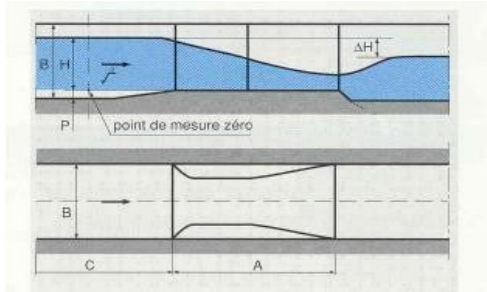
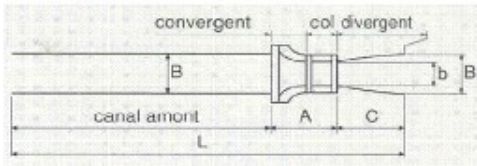
Hydrologic 1253: maten (mm)											
T Y P E	1253 AV	1253 AW	1253 AX	1253 AY	1253 AZ	1253 A	1253 B	1253 C	1253 D	1253 E	1253 F
B	min (B-2%)	3 9	5 3	8 3	9 8	1 2 2	147	196	245	294	490
	max (B+2%)	4 1	5 7	8 7	1 0 2	1 2 8	153	204	255	306	510
L	min (L-5%)	3 1 8	4 2 7	6 8 4	7 5 5	8 7 8	1007	1349	1691	2023	3372
	max (L+5%)	3 5 1	4 7 2	7 5 6	8 3 4	9 7 1	1113	1491	1869	2236	3727
L 1	min (L1-5%)	1 9 0	2 6 1	4 0 3	4 7 5	5 9 3	712	950	1187	1425	1615
	max (L1+5%)	2 1 0	2 8 8	4 4 6	5 2 5	6 5 6	787	1050	1312	1575	1785
H	min (H+2,5%)	9 0	9 9	1 5 0	1 7 1	2 0 9	213	285	356	427	712
	max (H+2,5%)	1 0 0	1 1 1	1 6 6	1 8 9	2 3 1	237	315	394	473	788

Hydrologic 1253: debietformule* $Q_{[m^3/h]} = (a \cdot h^b - b \cdot h^3 + c \cdot h^2 + d \cdot h - e) \cdot 3,6$ [h]											
T Y P E	1253 AV	1253 AW	1253 AX	1253 AY	1253 AZ	1253 A	1253 B	1253 C	1253 D	1253 E	1253 F
constanten**											
a	10000	7000	3100	2700	1900	1360	1000	690	530	330	240
b	1310	1400	1020	1020	897	790	750	650	602	504	453
c	184	239	295	329	365	398	470	522	575	654	725
d	2.46	4.05	8.66	10.71	15.29	21	31.7	46	61.2	96	137
e	0.0063	0.013	0.041	0.055	0.1	0.17	0.32	0.6	0.96	1.99	3.66
toepassingsgebied											
h_{min} (mm)**	8	10.5	17.5	20	25	30	40	50	60	80	100
h_{max} (mm)**	52	68	110.5	130	162.5	195	260	325	390	520	650
$h_{verloop}$ (mm)	95	105	158	180	220	225	300	375	450	600	750
Q_{min} (m³/h)	0.09	0.21	0.74	1.0	1.8	2.9	6.0	11	19	35	61
Q_{max} (m³/h)**	1.8	3.9	13	20	34	55	112	200	400	650	1100

* enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan controle-eisen

** bron: Hydrologic

Série 1254



J / N	bodem van de keel waterpas
J / N	vanden van de keel loodrecht
J / N	vanden van de keel evenwijdig
J / N	bodem van aanvoerkanaal waterpas
J / N	vanden van aanvoerkanaal loodrecht
J / N	vanden van aanvoerkanaal evenwijdig
J / N	leeglopen bij nuldebiet
J / N	aanstroomsnelheid vlak
J / N	zijdelinge meetkamer aanwezig

B	b	A	C	L	H

Hydrologic 1254: maten (mm)							
T Y P E	1254 A	1254 B	1254 C	1254 D	1254 E	1254 F	1254 I
B	min (B-2%)	637	784	931	1078	1225	1372
		650	800	950	1100	1250	1400
	max (B+2%)	663	816	969	1122	1275	1428
b	min (b-2%)	382	470	558	646	735	823
		390	480	570	660	750	840
	max (b+2%)	398	490	582	674	765	857
A	min (A-5%)	671	815	959	1102	1244	1387
		707	850	1000	1150	1300	1450
	max (A+5%)	743	901	1061	1218	1376	1533
C	min (C-5%)	1007	1206	1396	1605	1805	2004
		1060	1270	1480	1690	1900	2110
	max (C+5%)	1113	1334	1544	1775	1995	2216
L	min (L-5%)	7790	9595	11400	13110	14915	16625
		8200	10100	12000	13800	15700	17500
	max (L+5%)	8610	10605	12600	14490	16485	18375
H	min (H-5%)	883	1073	1273	1463	1653	1852
		930	1110	1300	1500	1700	1900
	max (H+5%)	977	1187	1407	1617	1827	2037

Hydrologic 1254: debietformule* $Q[m^3/h] = (a \cdot h^4 - b \cdot h^3 + c \cdot h^2 + d \cdot h - e) \cdot 3,6$ [h in m]							
T Y P E	1254 A	1254 B	1254 C	1254 D	1254 E	1254 F	1254 I
constanten**							
a	170	125	95	76	61	53	36
b	383	349	312	290	270	255	221
c	81	903	97	1052	11	1181	1332

d	4 19 4	271	7 35 4	4 4 5	19 53 9	645	953
e	6.1	1 1	17	2 5	33	4 5	87
toepassingsgebied							
$h_{\min}$ (m)**	1.3	1.6	1.9	0 . 2 2	0.2 5	0.28	0.36
$h_{\max}$ (m)**	0.8 45	1.04	1.235	1 . 4 3	1.6 25	1.82	2.34
h_{overloop} (m)	0.9 3	1.13	1.3 4	1 . 5 4	1.7 4	1.95	2.51
$Q_{\min}$ (m³/h)	12 0	200	30 0	4 4 0	60 0	630	1500
$Q_{\max}$ (m³/h)**	200 0	3000	56 00	8000	11 00 0	12000	28000

* enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan controle-eisen

** bron: Hydrologic



b	D	L	B	C	E	G

parshall: maten											
	(mm)										
T Y P E	1"	2 "	3 "	6 "	9 "	1 " 6 "	2 "	3'	4'	5 '	
b min (b-2%) max (b+2%)	24 25 26	4 9 51 5 3	74 76 78	1 4 8 152 1 5 6	2 2 4 229 2 3 4	2 9 8 305 3 1 2	4 4 7 457 4 6 7	5 9 7 610 6 2 3	895 914 933	1194 1219 1244	1493 1524 1555
D min (D-2%) max (D+2%)	1 6 3 167 1 7 1	2 0 9 214 2 1 9	2 5 3 259 2 6 5	3 8 9 397 4 0 5	5 6 3 575 5 8 7	8 2 8 845 8 6 2	1005 1026 1047	1181 1206 1231	1540 1572 1604	1898 1937 1976	2255 2302 2349
L min (L-5%) max (L+5%)	72 76 80	1 0 8 114 1 2 0	1 4 4 152 1 6 0	2 8 9 305 3 2 1	2 8 9 305 3 2 1	5 7 9 610 6 4 1	5 7 9 610 6 4 1	5 7 9 610 6 4 1	579 610 641	579 610 641	579 610 641
B min (B-5%) max (B+5%)	3 3 8 356 3 7 4	3 8 5 406 4 2 7	4 3 4 457 4 8 0	5 7 9 610 6 4 1	8 2 0 864 9 0 8	1275 1343 1411	1348 1419 1490	1420 1495 1570	1562 1645 1728	1704 1794 1884	1845 1943 2041
C min (C-2%) max (C+2%)	91 93 95	1 3 2 135 1 3 8	1 7 4 178 1 8 2	3 8 6 394 4 0 2	3 7 3 381 3 8 9	5 9 7 610 6 2 3	7 4 6 762 7 7 8	8 9 5 914 9 3 3	1194 1219 1244	1493 1524 1555	1792 1829 1866
E min (E-5%) max (E+5%)	2 1 7 229 2 4 1	2 4 1 254 2 6 7	4 3 4 457 4 8 0	5 7 9 610 6 4 1	7 2 3 762 8 0 1	8 6 8 914 9 6 0	8 6 8 914 9 6 0	8 6 8 914 9 6 0	868 914 960	868 914 960	868 914 960
G min (G-5%) max (G+5%)	1 9 2 203 2 1 4	2 4 1 254 2 6 7	2 8 9 305 3 2 1	5 7 9 610 6 4 1	4 3 4 457 4 8 0	8 6 8 914 9 6 0	8 6 8 914 9 6 0	8 6 8 914 9 6 0	868 914 960	868 914 960	868 914 960

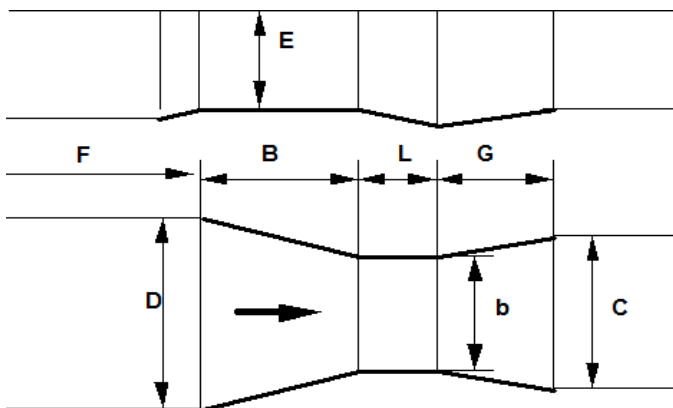
parshall: toepassingsgebied											
T Y P	1"	2"	3"	6"	9"	1'	1 1/6"	2'	3'	4'	5'

E											
h_{min} (m) **	0.0 3	0.03	0.0 3	0.03	0.03	0.03	0.0 3	0.045	0.0 45	0.0 6	0.06
h_{max} (m)	0.1 7	0.19	0.3 4	0.46	0.57	0.69	0.6 9	0.69	0.6 9	0.6 9	0.69
$h_{overloop}$ (m)	0.2 3	0.25	0.4 6	0.61	0.76	0.91	0.9 1	0.91	0.9 1	0.9 1	0.91
Q_{min} (m³/h)**	0.9 5	1.9	2.8	5.4	9	12	17	42	61	12 5	155
Q_{max} (m³/h)	14	33	11 9	416	816	1414	21 48	2892	43 97	59 21	7456

parshall: debietformule* $Q_{[m^3/s]} = C * h^{exp}_{[m]} * 3600$											
T Y P E	1"	2"	3"	6"	9"	1'	1'6 "	2'	3'	4'	5'
Coëfficiënte n** C	0.0 60 4	0.1 20 7	0.1 76 5	0.3 81 2	0.5354	0.6 90 9	1.0 56 0	1.4 29 0	2.1 84 0	2.9 54 0	3.7320
exponent	1.5 5	1.5 5	1.5 47	1.5 8	1.53	1.5 22	1.5 38	1.5 5	1.5 66	1.5 78	1.587

* enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan controle-eisen

** bron: Aquafin



I / N	kruik in bodem van de keel
I / N	wanden van de keel loodrecht
I / N	wanden van de keel evenwijdig
I / N	bodem van aanvoerkanaal waterpas
I / N	wanden van aanvoerkanaal loodrecht
I / N	wanden van aanvoerkanaal evenwijdig
I / N	leeglopen bij nuldebiet
I / N	aanstroomsnelheid vlak
I / N	zijdelingse meetkamer aanwezig

b	D	L	B	C	E	G

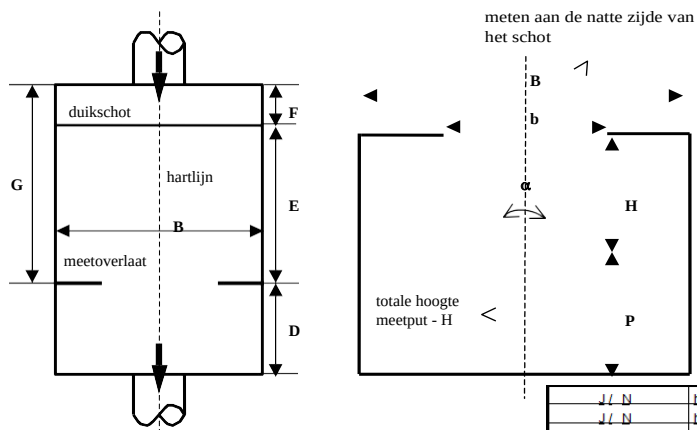
parshall: maten (mm)										
6'	7'	8'	10'	12'	15'	20'	25'	30'	40'	50'
1791	2091	2389	2987	3584	4480	5974	7467	8961	11947	14935
1828	2134	2438	3048	3658	4572	6096	7620	9144	12191	15240
1865	2177	2487	3109	3732	4664	6218	7773	9327	12435	15545
2613	2971	3329	4660	5494	7467	8961	10454	12066	15171	18158
2667	3032	3397	4756	5607	7620	9144	10668	12313	15481	18529
2721	3093	3465	4852	5720	7773	9327	10882	12560	15791	18900
579	579	579	868	868	1158	1737	1737	1737	1737	1737
610	610	610	914	914	1219	1829	1829	1829	1829	1829
641	641	641	960	960	1280	1921	1921	1921	1921	1921
1987	2129	2271	4053	4633	7239	7239	7239	7528	7818	7818
2092	2242	2391	4267	4877	7620	7620	7620	7925	8230	8230
2197	2355	2511	4481	5121	8001	8001	8001	8322	8642	8642
2091	2389	2688	3584	4380	5476	7168	8762	10354	13541	16926
2134	2438	2743	3658	4470	5588	7315	8941	10566	13818	17272
2177	2487	2798	3732	4560	5700	7462	9120	10778	14095	17618
868	868	868	1158	1447	1737	2027	2027	2027	2027	2027
914	914	914	1219	1524	1829	2134	2134	2134	2134	2134
960	960	960	1280	1601	1921	2241	2241	2241	2241	2241
868	868	868	1737	2316	2895	3475	3763	4053	4633	5791
914	914	914	1829	2438	3048	3658	3962	4267	4877	6096
960	960	960	1921	2560	3201	3841	4161	4481	5121	6401

parshall: toepassingsgebied										
6'	7'	8'	10'	12'	15'	20'	25'	30'	40'	50'
0.0	0.0	0.0								
75	0	75	0.9	1.1	1.37	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60
0.6	7	0.6	1	4	1.83	2.13	2.13	2.13	2.13	2.13
9	5	9	1.2	1.5						
0.9	0.6	0.9	2	2						
1	9	1								
	0.9									
	1									
261		34								
90		2	23	39	652	110	137	163	217	270
05		12	06	33	77	362	048	734	107	478
		12	3	9						
		6								

parshall: debietformule* Q [m³/s] = C * h ^{exp} [m]										
*3600										
6'	7'	8'	10'	12'	15'	20'	25'	30'	40'	50'
4.5		6.1	7.4	8.8	10.9	14.4	17.9	21.4	28.4	35.4

21 0		15 0	62 9	60 7	574	519	465	410	301	191
1.5 95		1.6 07	1.6 00	1.6 00	1.60 0	1.60 0	1.60 0	1.60 0	1.60 0	1.60 0

enkel toepasbaar indien kenmerkende maten voldoen aan controle-
eisen bron: Aquafin



J / N	hartlijn loodrecht
J / N	hartlijn midden van meetput
J / N	afschuining stroomafwaarts
J / N	platte kant van meetoverlaat vlak
J / N	wanden van meetput loodrecht
J / N	wanden van meetput evenwijdig
J / N	kruijschep
J / N	aanslootruimte van waar losbaar
J / N	benedenst rooms waterpeil > 50 mm onder kruijs

b	B	H	P	D	E	F	G

V-schot: maten				
T Y P E m a a t	2 8 ° 4 ,	5 3 ° 8 ,	9 0 °	
min (b/H-5%) b/H	0,48 0 · 5	0,95 1	1,90 2	
max (b/H+5%)	0,53	1,05	2,10	
min (α-5%) α max (α+5%)	26°3'47" 28° ° 4 ,	50°2'8"36" 53° ° 8 ,	87°3'44" 90°	
min b	min. 190	min. 380	min. 760	
min H	min. 380	min. 380	min. 380	
min B	min. 1000	min. 1000	min. 1000	
min P	min. 450	min. 450	min. 450	
min D	min. 500	min. 500	min. 500	
min E	min. 1500	min. 1500	min. 1500	
min F	min. 500	min. 500	min. 500	
min G	min. 2000	min. 2000	min. 2500	

V-schot: toepassingsgebied °				
TYPE	28°4'	53°8'	90°	
h _{min} (m)* h _{max} (m)*	0.05 0.38	0.05 0.38	0.05 0.38	
Q _{min} (m³/h) Q _{max} (m³/h)	0.8 113	1.5 222	2.9 443	

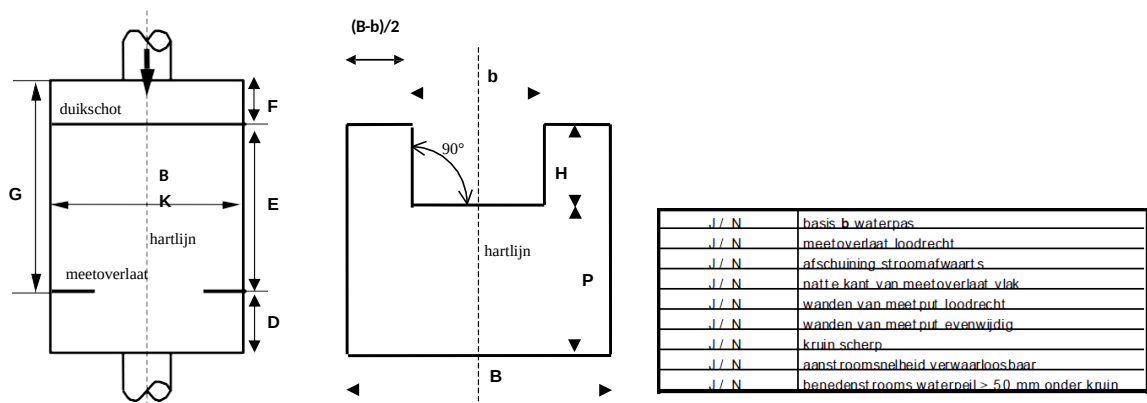
V-schot: debietformule° Q [m³/h]= c*Cd*h ^{exp} [m]				
TYPE	28°4'	53°8'	90°	
Coëfficiënt				

en*	0.59	1.1	2.362
c	0625	812	5
C _d	5		
expon	in functie van h, zie Table E.3 ISO 1438:2008		
ent	2.5	2.5	2.5

V-schot: vereenvoudigde debietformule ** $Q_{[m^3/s]} = C \cdot h^{exp}_{[m]}$			
TYPE	28°4'	53°8'	90°
Coëfficiënte n**			
C	0.36	0.7	1.38
	52	079	
exponent	2.5	2.5	2.5

* ISO 1438:2008

** bron: Aquafin



Rechthoekig meetschot met contractie: maten

b	B	H	P	D	E	F	G

rechthoekig meetschot met contractie: controle-eisen (mm)									
T Y P E	0.3	0.4	0.5	0.6	0.8	1.0	1.5	2 . 0	3 . 0
b	min (b/H-5%)	285	380	475	570	760	950	1425	1900
		300	400	500	600	800	1000	1500	2000
	max (b/H+5%)	315	420	525	630	840	1050	1575	2100
B ^{**} [(B-b)/2 $\geq$ 2h _{max}]	min	min. 700	min. 933	min. 1167	min. 1400	min. 1867	min. 2333	min. 3500	min. 4667
H [H $\geq$ h _{max}]	min	min. 100	min. 133	min. 167	min. 200	min. 267	min. 333	min. 500	min. 667
P ^{**} [P $\geq$ 2h _{max}]	min	min. 200	min. 267	min. 333	min. 400	min. 533	min. 667	min. 1000	min. 1333
D	min	min. 500	min. 500	min. 500	min. 500	min. 500	min. 500	min. 500	min. 500
E	min	min. 1500	min. 1500	min. 1500	min. 1500	min. 1500	min. 1500	min. 1500	min. 1500
F	min	min. 500	min. 500	min. 500	min. 500	min. 500	min. 500	min. 500	min. 500
G	min	min. 2000	min. 2000	min. 2500	min. 3000	min. 4000	min. 5000	min. 7500	min. 10000

rechthoekig meetschot met contractie: toepassingsgebied **									
T Y P E	0.3	0.4	0.5	0.6	0.8	1.0	1.5	2 . 0	3.0
h _{min} (m)*	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.045
h _{max} (m)**	0.10	0.13	0.17	0.20	0.27	0.33	0.50	0.67	1.00
Q _{min} (m³/h)*	10	13	17	20	27	34	51	68	103
Q _{max} (m³/h)**	60	116	216	331	693	1171	3275	6671	18527

rechthoekig meetschot met contractie: vereenvoudigde debietformule**									
TYPE	0.3	0.4	0.5	0.6	0.8	1.0	1.5	2 . 0	3.0
Coëfficiënten ***									
C	1.838	1.838	1.838	1.838	1.838	1.838	1.838	1.838	1.838
exponent	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

* ISO 1438:2008

** bij gebruik vereenvoudigde debietformule (bron: Water Measurements Manual, United States Department of the Interior Bureau of Reclamation); enkel toepasbaar indien meetschot voldoet aan toepassingsvoorwaarden: $P \geq 2h_{max}$; $(B-b)/2 \geq 2h_{max}$

*** bron: Aquafin



b	B	B1	H	P	D	E	F	G

Cipolletti meetschot: toepassingsgebied*									
T Y P E	0.3	0.4	0.5	0.6	0.8	1.0	1.5	2.0	3.0
$h_{\min}$ (m)*	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
$h_{\max}$ (m)*	0.10	0.13	0.17	0.20	0.27	0.33	0.50	0.67	1.00
$Q_{\min}$ (m³/h)	29	38	48	58	78	97.0	146	195	294
$Q_{\max}$ (m³/h)	63	117	218	335	700	1185	3313	6848	18739

[illegible]

* bij gebruik vereenvoudigde debietformule (bron: Water Measurements Manual, United States Department of the Interior Bureau of Reclamation); enkel toepasbaar indien meetschot voldoet aan toepassingsvoorwaarden: $P \geq 2h_{\max}$; $(B-B1)/2 \geq 2h_{\max}$

** bron: Aquafin

BIJLAGE B: DEBIETTABELLEN OPEN CONTROLE- INRICHTINGEN

[zie zip-bestand *Bijlage B_WAC-I-A-012_debiettabellen*]

BIJLAGE C: OMREKENINGSFORMULE(S) WATERHOOGTE – DEBIET VOOR OPEN MEETGOTEN (INFORMATIEF)

C.1 Vlakke meetgoten met rechthoekige doorsnede

C.1.1 Debietformule conform ISO 4359

De basisformule om uit de waterhoogte in een vlakke meetgoot met rechthoekige doorsnede het debiet te berekenen (conform ISO 4359) is als volgt:

$$Q = \left(\frac{2}{3}\right)^{1,5} * \sqrt{g} * C_d * C_v * b * h^{1,5}$$

met:

Q	debiet dat door de meetgoot stroomt
(m ³ /s)	C _d debietcoëfficiënt
C _v	snelheidscoëfficiënt
g	zwaartekrachtversnelling (9.81 m/s ²)
b	breedte van de keel (m)
h	waterhoogte, gemeten stroomopwaarts van de keel t.h.v. de meetsectie

en waarbij:

$$C_d = \left(1 - 2 \frac{\delta}{L} \frac{L}{b}\right) * \left(1 - \frac{L}{h}\right)^{1,5}$$

$$\left(\frac{2}{3} \frac{b}{\sqrt{3} B}\right)^2 * C_d^2 * C_v^2 \frac{2}{v} C^3 + 1 = 0$$

met:

L	lengte van de keel (m)
δ	dikte van de laminaire grenslaag (m)
B	breedte van het aanvoerkanaal (m)

De verhouding δ/L geeft de relatieve dikte van de laminaire grenslaag weer. Voor gladde wanden van meetgoten die binnen de gestelde toleranties vallen, wordt deze verhouding δ/L gelijk gesteld worden aan 0,003.

Opmerking:

De verhouding δ/L stijgt bij ruwere wanden van de meetgoot. De verhouding δ/L werd experimenteelⁿ bepaald op bijvoorbeeld 0.0035 voor plastic, en 0.0058 voor roestvrij staal. Om de overeenkomsten met de vereenvoudigde formule te behouden, werd gekozen om de verhouding δ/L ongewijzigd op 0,003 te behouden. Voor meetgoten met ruwere wanden (bijv. beton) zal dit steeds een **overschatting opleveren van het werkelijk debiet**.

C.1.2 Vereenvoudigde debietformule

Voor vlakke meetgoten met rechthoekige doorsnede, kan het debiet ook voorgesteld worden onder een vereenvoudigde vorm:

$$Q = k * h^u * f$$

me
t:

Q	debiet dat door de meetgoot stroomt (m ³ /h)
k	constante afhankelijk van het type venturi (zie BIJLAGE A, indien beschikbaar)

h waterhoogte (m), gemeten stroomopwaarts van de keel ter hoogte van de meetsectie

u	exponent afhankelijk van het type meetgoot (u is standaard 1,5)
f	omrekeningsfactor naar m ³ /h gelijk aan 3600

Deze vereenvoudigde debietformule houdt geen rekening met afwijkende maten, of met de wrijving aan de wanden. Daarom is het belangrijk dat de kenmerkende maten binnen de gestelde controle-eisen vallen.

Opmerking:

Voor meetgoten met gladde wanden biedt de vereenvoudigde formule een vrij goede benadering, vooral dan bij voldoende vulhoogte. Voor meetgoten met ruwere wanden (bijv. beton) gaat de vereenvoudigde formule het debiet overschatten. Deze overschatting bedraagt 2-5% bij maximale vullingsgraad van de meetgoot ($h \approx H$), en loopt op tot 10-15% voor een waterhoogte gelijk aan 0,1L ($h \approx 0,1 L$)ⁿ. Voor betonnen en plastic goten zijn ook aangepaste u en k-waarden beschikbaar, die een betere benadering geven van het debiet, maar deze zijn binnen deze Code van Goed Praktijk niet van toepassing.

C.1.3 Herberekening debiet met werkelijke maten conform ISO 4359

Indien echter de kenmerkende maten buiten de gestelde toleranties vallen, moet de relatie waterhoogte-debiet herberekend worden op basis van de werkelijke (gemeten) maten. De standaard debiettabellen met nominale maten in BIJLAGE B mogen in dat geval NIET toegepast worden.

- Een herberekening van de debiettabel op basis van de werkelijke maten kan uitgevoerd worden met behulp van de standaard debiettabellen in BIJLAGE B (excel versie), mits aanpassing van de nominale maten (rechterbovenhoek van tabel).
- ISO 4359 stelt tevens een rekenblad ter beschikking om het overeenkomstig debiet te bepalen bij een bepaalde waterhoogte in een rechthoekige of of trapezoïdale meetgoot met de vastgestelde (werkelijke) maten van de controle-inrichting: <http://standards.iso.org/iso/4359> (bestand "flume 1").

Opmerking:

Voor rechthoekige meetgoten worden volgende parameters in het rekenblad ingegeven:

- b, B, L (werkelijke maten), h
- m, m_A en p gelijk gesteld aan 0 (verklaring symbolen: zie bestand "flume 1")

C.2 Vlakke meetgoten met parabolische doorsnede

Voor parabolische meetgoten, waarvan de afmetingen binnen de gestelde toleranties vallen, wordt het debiet voorgesteld onder de vorm:

$$Q = C * h^{exp} * f$$

met:	Q	debiet dat door de meetgoot stroomt (m ³ /h)
	C	constante afhankelijk van het type meetgoot (zie maattabellen)
	h	waterhoogte (m), gemeten stroomopwaarts van de keel ter hoogte van de meetsectie
	exp	exponent afhankelijk van het type meetgoot
	f	omrekeningsfactor naar m ³ /h gelijk aan 3600

C.3 Khafagi meetgoten

C.3.1 Khafagi QV

Voor Khafagi meetgoten van het type QV, waarvan de afmetingen binnen de gestelde toleranties vallen, wordt het debiet voorgesteld onder de vorm:

$$Q = 0.01744 * b * h^{1.5} + 0.00091 * h^{2.5} * f$$

met:	Q	debiet dat door de meetgoot stroomt (m ³ /h)
	b	breedte van de keel gemeten op het smalste punt (cm)
	h	waterhoogte (cm)
	f	omrekeningsfactor naar m ³ /h gelijk aan 3,6

C.3.2 Hydrologic

Voor meetgoten van het type Hydrologic, waarvan de afmetingen binnen de gestelde toleranties vallen, wordt het debiet voorgesteld onder de vorm:

$$Q = (a * h^4 - b * h^3 + c * h^2 + d * h - e) * f$$

met:	Q	debiet dat door de meetgoot stroomt (m ³ /h)
	a,b,c,d,e	constanten afhankelijk van het type meetgoot (zie maattabel)
	h	waterhoogte (m)
	f	omrekeningsfactor naar m ³ /h gelijk aan 3,6

C.4 Parshall meetgoten

Voor de Parshall meetgoten, zoals vermeld in bovenstaande maattabel en waarvan de afmetingen binnen de gestelde toleranties vallen, wordt het debiet voorgesteld onder de vorm:

$$Q = C_1 * h^n * f$$

met:	Q	debiet dat door de meetgoot stroomt (m ³ /h)
	C ₁	constanten afhankelijk van het type meetgoot (zie maattabel)
	h	waterhoogte (m)
	n	exponent, afhankelijk van het type meetgoot (zie maattabel)
	f	omrekeningsfactor naar m ³ /h gelijk aan 3600

C.5 Meetschot met driehoekige uitsnijding (V-schot, Thomson)

De basisformule om vanuit de waterhoogte het debiet te berekenen is als volgt (Kindsvater-Shen formule conform ISO 1438):

$$Q = \frac{8}{15} * C_d * \frac{\tan^2 \alpha}{2} * \sqrt{2g} * h^{2.5} * f$$

met:	Q	debiet dat door de meetgoot stroomt (m ³ /h)
	C _d	debietcoëfficiënt (zie maattabellen of Annex E van ISO 1438:2008)

g	zwaartekrachtversnelling (9.8066 m/s ²)
h	waterhoogte (m), gemeten stroomopwaarts van de keel t.h.v. de meetsectie
f	omrekeningsfactor naar m ³ /h gelijk aan 3600

In praktijk worden in Vlaanderen enkel gestandaardiseerde V-schotten toegepast, waarbij volgende formule, in functie van het type meetschot, kan toegepast worden:

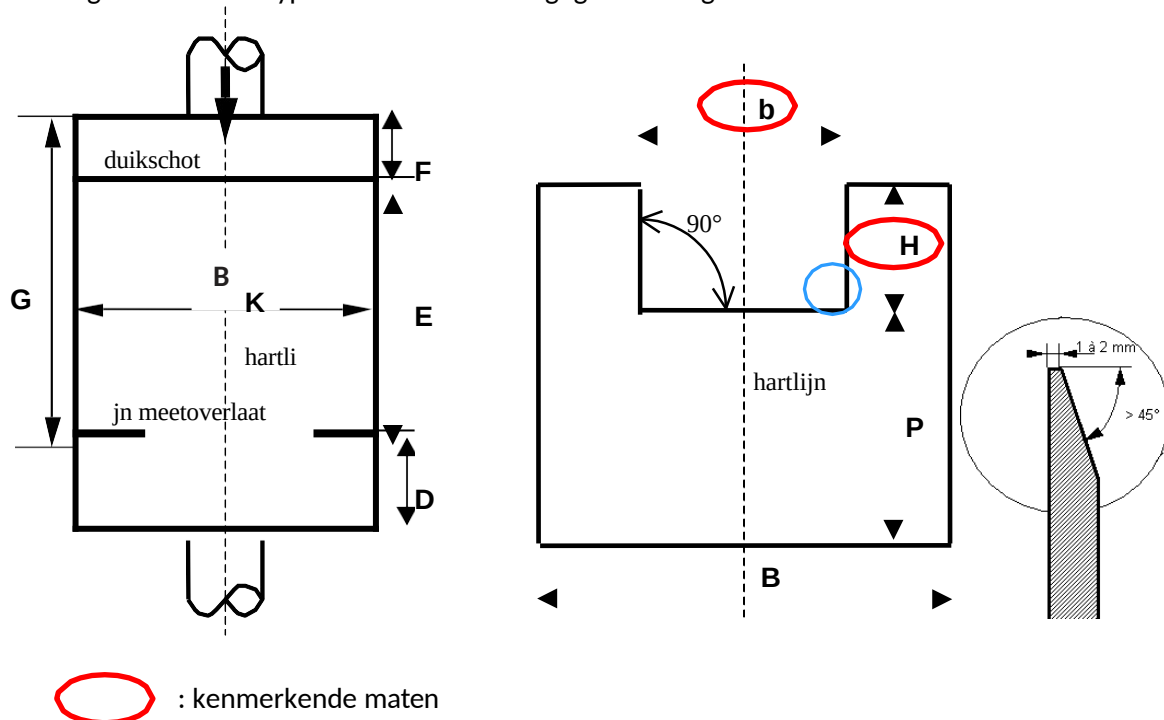
- $\alpha = 28^{\circ}4'$: $Q = 0.590625 * C_d^5 * h^{1/2} * f$
- $\alpha = 53^{\circ}8'$: $Q = 1.18125 * C_d^5 * h^{1/2} * f$
- $\alpha = 90^{\circ}$: $Q = 2.3625 * C_d^5 * h^{1/2} * f$

BIJLAGE D: BESCHRIJVING EN OMREKENINGSFORMULES VAN RECHTHOEKIGE EN TRAPEZIUMVORMIGE MEETSCHOTTEN (INFORMATIEF)

D.1 Meetschot met rechthoekige contractie

Bij dit meetschot loopt de overstortrand parallel ten opzichte van het wateroppervlak. De overstortopening bestaat uit een rechthoek in het midden van het schot. Meetschotten met rechthoekige overstort zijn geschikt voor grotere hoeveelheden afvalwater met een quasi constante afvoer.

De configuratie van dit type meetschot is weergegeven in Figuur 10.



Figuur 10: Schematische voorstelling van meetschot met rechthoekige overlaat met insnoering met aanduiding van maten (bron: VMM) [B: breedte van het aanvoerkanaal/meetput; b: breedte van de rechthoekige uitsnijding; H: hoogte van de rechthoekige uitsnijding; P: hoogte van de onderzijde van de rechthoekige uitsnijding ten opzichte van de vloer; D: stroomafwaartse afstand van het meetschot tot aan de putwand; E: afstand tussen duikschot en meetschot; F: stroomopwaartse afstand van putwand tot aan het duikschot; G: stroomopwaartse afstand van de putwand tot aan het meetschot; H: hoogte van de rechthoekige uitsnijding]

De basisformule om vanuit de waterhoogte het debiet met een rechthoekig meetschot (voor alle waarden b/B) te berekenen, is als volgt (Kindsyater-Carter formule conform ISO 1438):

$$Q = C_d \cdot \frac{2}{3} \cdot b \cdot h^{1.5} \cdot \sqrt{2g} \cdot f$$

met:	Q	debiet dat door de meetgoot stroomt (m ³ /h)
	C _d	debietcoëfficiënt
	g	zwaartekrachtversnelling (9.81 m/s ²)
	b	breedte van de rechthoekige uitsparing (m)
	h	waterhoogte, gemeten stroomopwaarts van het meetschot
	f	omrekeningsfactor naar m ³ /h gelijk aan 3600

waarbij, voor specifieke verhoudingen b/B (met B de breedte van het aanvoerkanaal waarin het meetschot geplaatst werd), volgende lineaire relatie tussen C_d en de verhouding h/P kon worden vastgesteld (zie Tabel 1).

De geometrie en onderlinge verhoudingen van de afmetingen van het meetschot zijn belangrijk opdat de relatie tussen debiet en de opwaartse waterhoogte (zie debiettabellen in Bijlage A.5.2) kan toegepast worden:

- de hoogte P , van de bodem van de meetput tot aan de rechthoekige uitsnijding, moet minimaal 0,10 m zijn ($P \geq 0,10$ m);
- de verhouding tussen de waterhoogte (h) en de hoogte van rechthoekig uitsnijding t.o.v. de vloer (P) mag maximaal 2,5 bedragen ($h/P \leq 2,5$);
- de breedte van de uitsnijding (b) moet minimaal 0.15 m zijn ($b \geq 0,15$ m);
- de waterhoogte h mag niet minder dan 0.03 m bedragen ($h \geq 0.03$ m);
- de verhouding $(B-b)/2$ moet minimaal 0.1

voor $\frac{b}{B}$	debietcoëfficiënt $C_d =$
1,0	$0,602 + 0,075 \frac{h}{P}$
0,9	$0,598 + 0,064 \frac{h}{P}$
0,8	$0,596 + 0,045 \frac{h}{P}$
0,7	$0,594 + 0,030 \frac{h}{P}$
0,6	$0,593 + 0,018 \frac{h}{P}$
0,5	$0,592 + 0,010 \frac{h}{P}$
0,4	$0,591 + 0,0058 \frac{h}{P}$
0,2	$0,589 + 0,0018 \frac{h}{P}$

Tabel 1: relatie tussen debietcoëfficiënt C_d in functie van verhouding h/P
(tussenvallende waarden voor b/B kunnen geïnterpoleerd worden)

Het debiet in een rechthoekige meetgoot kan ook voorgesteld worden onder een vereenvoudigde vorm (Francis formule):

$$Q = 1.8380 * (b - 0,2 * h) * h^{1,5} * f$$

me	Q	debiet dat door de meetgoot stroomt (m^3/h)
t:	h	waterhoogte (m), gemeten stroomopwaarts van het meetschot
	f	omrekeningsfactor naar van m^3/s naar m^3/h gelijk aan 3600

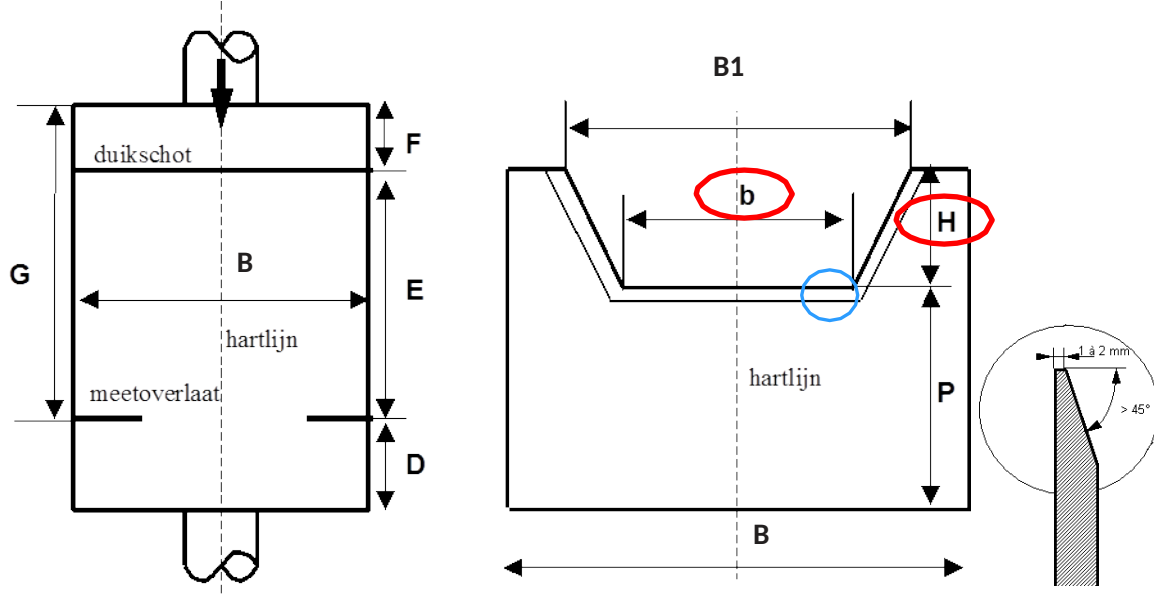
Bovenstaande relatie tussen debiet en de opwaartse waterhoogte is enkel geldig mits rekening te houden met volgende toepassingsvoorwaarden:

- P moet groter zijn dan $2h_{\max}$ ($P \geq 2h_{\max}$);
- $(B-b)/2$ moet groter zijn dan $2h_{\max}$ ($(B-b)/2 \geq 2h_{\max}$);

- de waterhoogte h mag niet minder dan 0.03 m bedragen ($h \geq 0.03$ m), maar mag niet meer zijn dan $b/3$ (tenzij een verificatie bij grotere waterhoogtes aantoont dat deze formule nog toepasbaar is).

Δ.2 Meetschot met trapeziumvormige contractie (Cipolletti)

De configuratie van dit type meetschot is weergegeven in Figuur 11.



Figuur 11: Schematische voorstelling van meetschot Cipolletti met trapezoidale overlaat met aanduiding van maten (bron: VMM) [B: breedte van de meetput, waarin het meetschot geïnstalleerd werd; B1: breedte van de bovenzijde van de trapeziumvormige uitsnijding; b: breedte van de onderzijde van de trapeziumvormige uitsnijding; H: hoogte van de uitsnijding; P: hoogte van de onderzijde van de rechthoekige uitsnijding ten opzichte van de vloer; D: stroomafwaartse afstand van het meetschot tot aan de putwand; E: afstand tussen duikschot en meetschot; F: stroomopwaartse afstand van putwand tot aan het duikschot; G: stroomopwaartse afstand van de putwand tot aan het meetschot; H: hoogte van de rechthoekige uitsnijding]

Het debiet in een meetgoot met trapeziumvormige doorlaat kan voorgesteld worden onder een vereenvoudigde vorm:

$$Q = 1.859 * b * h^{1.5} * f$$

met:	Q	debiet dat door de meetgoot stroomt (m^3/h)
	h	waterhoogte (m), gemeten stroomopwaarts van het meetschot
	f	omrekeningsfactor m^3/s naar m^3/h gelijk aan 3600

Bovenstaande relatie tussen debiet en de opwaartse waterhoogte is enkel geldig mits rekening te houden met volgende toepassingsvoorwaarden:

- de schuine zijden van het meetschot moeten een verticaal-tot-horizontaal verhouding hebben van 4/1;
- P moet groter zijn dan $2h_{\text{max}}$ ($P \geq 2h_{\text{max}}$);
- $(B-B1)/2$ moet groter zijn dan $2h_{\text{max}}$ ($(B-B1)/2 \geq 2h_{\text{max}}$);
- de waterhoogte h mag niet minder dan 0.06 m bedragen ($h \geq 0.06$ m), maar mag niet meer zijn dan $b/3$ (tenzij een verificatie bij grotere waterhoogtes aantoont dat deze formule nog toepasbaar is).

BIJLAGE E: REKENBLAD VOOR DEBIETSBEOORDELING (INFORMATIEF)

[zie excel-bestand *Bijlage E_WAC-I-A-012_Debietsbeoordeling Campagnes*]

E.1 Inleiding

De nauwkeurigheid van een debietsmeting aan de hand van een meetgoot is het grootst tussen het minimum- en maximum debiet. Deze $Q_{\min}$ en $Q_{\max}$ liggen vast voor elk type meetgoot. Aan de hand van het rekenblad kan makkelijk nagaan worden hoeveel procent van het geloosde afvalwater binnen deze marges valt. Wanneer een meetgoot te groot of te klein voor de geloosde debieten is, kunnen we dit visueel duidelijk maken aan de hand van grafieken.

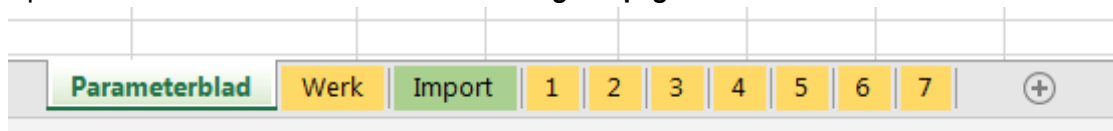
De berekening gebruikt de gelogde gegevens van de debietmeting, met name de uurdebieten, om een percentage te berekenen aan de hand van de volgende formule:

$$\frac{\% \text{ uurdebieten} > Q_{\max}}{\text{Dagdebiet}} \quad \text{en} \quad \% = \frac{\text{Uurdebieten} < Q_{\min}}{\text{Dagdebiet}_t}$$

Er worden automatisch grafieken gegenereerd waarin de gelogde uurdebieten gespiegeld worden aan de $Q_{\min}$ en $Q_{\max}$. De grafieken van $Q_{\min}$ en $Q_{\max}$ komen enkel tevoorschijn als er waardes binnen een marge van 30% liggen.

E.2 Gebruik van het rekenblad

1. Open het excel-rekenblad 'debietsbeoordeling campagnes'



2. Op het werkblad 'Parameterblad', druk op de knop '1) Initialisatie', hierdoor wordt het werkblad gereed gemaakt voor een nieuwe berekening.



3. Op het werkblad 'Parameterblad' worden de volgende parameters ingevuld: **bedrijfsnaam**, **meetputnummer**, **type meetgoot** en **staalnamedagen**. Bij type meetgoot kan je een meetgoot kiezen uit het menu.

Opgelet: enkel de groene cellen dienen ingevuld te worden, de gele cellen worden automatisch ingevuld!

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	Bedrijf	Meetputnummer									
2	UZ Leuven Gasthuisberg	3000005									
3											
4											
5											
6	Type meetgoot	Qmin	Qmax								
7	CRA V (360 m²/u)	16	360								
8											
9											
10											
11	Volgnummer	Staatnatedagen									
12		17/07/18									
13		18/07/18									
14		19/07/18									
15		20/07/18									
16		21/07/18									
17											
18											
19											
20											
21											
22											
23											
24											
25											
26											
27											
28											

- Kopieer de gelogde gegevens van de debietmeting in rekenblad op het tabblad 'Import'.

Parameterblad	Werk	Import	1	2	3	4	5	6	7	+

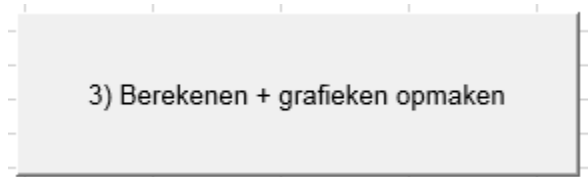
- Controleer of alle gegevens gekopieerd zijn en de cijfers vanaf rij 4 beginnen.

	A	B	C	D	E	F	G
1		Time period	Time period	Time period	Time period	Uurdebiet	Uurdebiet A
2		from	from	to	to	Kanaal 1	Kanaal 4
3		Date d/MM/yyyy	Time H:mr	Date d/MM/yyyy	Time H:mr	m³	m³
4	1	16/07/2018	11:34:49	16/07/2018	12:00:24	184	26,57
5	2	16/07/2018	12:00:24	16/07/2018	13:00:00	76	109,6
6	3	16/07/2018	13:00:00	16/07/2018	14:00:00	55	54,57
7	4	16/07/2018	14:00:00	16/07/2018	15:00:00	55	55,54
8	5	16/07/2018	15:00:00	16/07/2018	16:00:00	52	52,42
9	6	16/07/2018	16:00:00	16/07/2018	17:00:00	44	44,66
10	7	16/07/2018	17:00:00	16/07/2018	18:00:00	52	51,95
11	8	16/07/2018	18:00:00	16/07/2018	19:00:00	32	32,67
12	9	16/07/2018	19:00:00	16/07/2018	20:00:00	26	25,44
13	10	16/07/2018	20:00:00	16/07/2018	21:00:00	21	21,7
14	11	16/07/2018	21:00:00	16/07/2018	22:00:00	15	15,05

- Ga naar het tabblad 'Parameterblad' en druk op de knop '2) Gegevens splitsen'. Hierdoor worden de gegevens per dag gesplitst en op de tabbladen met overeenkomstig volgnummer geplaatst.

2) Gegevens splitsen

7. Blijf op het tabblad '**Parameterblad**' en druk op de knop '**3) Berekenen + grafieken opmaken**'. Hierdoor wordt er per dag een grafiek opgemaakt en berekeningen gemaakt.



Nu kunnen de gegevens per dag bekeken worden door naar de tabbladen met de overeenkomstige volgnummers te gaan.

Indien er gegevens verkeerd genoteerd of geselecteerd waren (zoals bijvoorbeeld de meetgoot) kan de knop '**4) Grafieken verwijderen**' gebruikt worden om de grafieken te verwijderen. Hierna kunnen de knoppen '**2) Gegevens splitsen**' en '**3) Berekenen + grafieken opmaken**' opnieuw gebruikt worden om de gegevens gewoonweg te overschrijven.

Bepaling van de geselecteerde elementen met inductief gekoppeld plasma – atomaire emissiespectrometrie

1 TOEPASSINGSGEBIED

De beschreven methode laat toe de elementen aluminium, antimoon, arseen, barium, beryllium, bismuth, boor, calcium, cadmium, cerium, chroom, fosfor, gallium, ijzer, indium, kalium, kobalt, koper, lithium, lood, magnesium, mangaan, molybdeen, natrium, nikkel, seleen, silicium, strontium, tellurium, titaan, vanadium, tin, wolfram, zilver, zink, zirkonium en zwavel te bepalen met de inductief gekoppeld plasma atomaire-emissiespectrometrie analysetechniek. De beschreven analysemethode kan gebruikt worden voor het bepalen van bovenvermelde elementen in water (bijvoorbeeld grond-, drink-, oppervlakte- en afvalwater), uitlogingen, alsook in de ontsluitingsvloeistoffen van de vernoemde watermatrices.

De procedure zoals beschreven in ISO 11885:2007 is van toepassing mits volgende aanpassingen:

2 DEFINITIES

Een beschrijving van de definities betreffende de prestatiekenmerken en meetonzekerheid wordt gegeven in WAC/I/B/001.

Definities in §3 van ISO 11885:2007 norm zijn niet van toepassing

3 MONSTERBEWARING

- Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.
- §9.2 Het toevoegen van HCl als stabilisator is optioneel. Daarnaast kan bij de bepaling van Sb, mits validatie, naast het toevoegen van HCl als stabilisator ook een andere stabilisator (bv. tartaarzuur, HF) worden gebruikt.
- §9.3 van ISO 11885 norm is niet van toepassing
- Toevoegen bij §9.4: voor de bepaling van het totaal gehalte van drinkwater dienen de monsters bij troebelheid gededuceerd te worden.

4 MONSTERVOORBEHANDELING

- §9.5.2 van ISO 11885 norm is niet van toepassing
- §9.5.3 Voor de destructie wordt eveneens verwezen naar WAC/III/B/001 en WAC/III/B/002.

5 INTERFERENTIES

Bijkomende duiding:

- Het meten van 2 analytische lijnen per element om spectrale interferenties op te sporen is noodzakelijk (tenzij technisch niet mogelijk) en de beoordeling hiervan dient als "expert judgement" te worden onderbouwd. Voor elk element wordt aangegeven welke de aanbevolen lijn is, alsook de alternatieve lijn(en) indien beschikbaar.

- Minimaal wordt tijdens de validatie de interferentie van Fe op Cd onderzocht en wordt hiervoor een criterium vooropgesteld.
- Het opvolgen van niet spectrale interferenties door gebruik te maken van interne standaarden is noodzakelijk, tenzij het laboratorium over voldoende evidentie beschikt dat de matrix constant is en/of ondervangen wordt door de toegepaste methode (bv. standaard additie).

6 APPARATUUR EN MATERIAAL

6.1 APPARATUUR

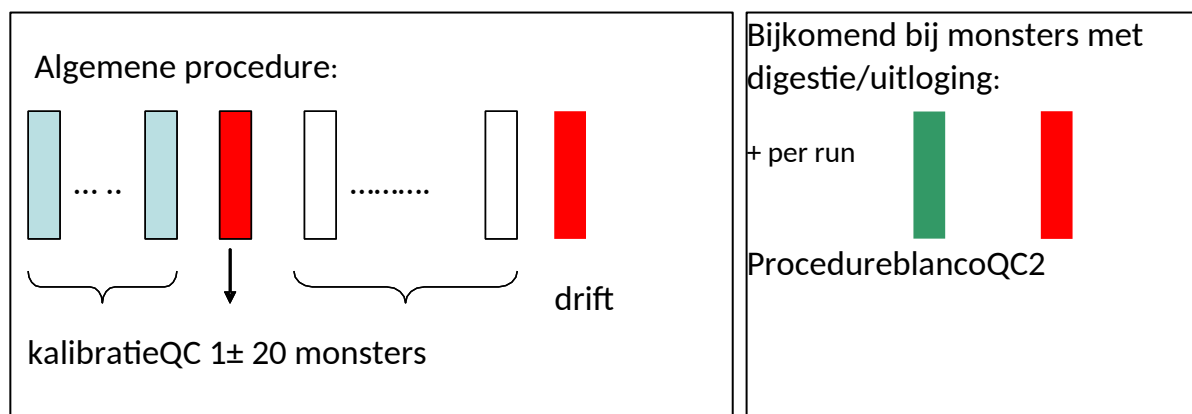
Hydridegeneratiesysteem (toevoegen)

Voor de bepaling van arseen, seleen en antimoon op laag niveau kan er overgestapt worden naar hydridegeneratie. As(III), Sb(III) en Se(IV) worden gereduceerd naar de gasvormige hydridevorm (AsH_3 , SbH_3 , SeH_2) met tetrahydroboraat in een zoutzuur medium. Deze hydrides worden door een argonstroom in het plasma geleid. Belangrijk bij deze techniek is dat de elementen enkel voorkomen in hun hierboven beschreven oxidatiegraad (pre-reductie). Voor de pre-reductie en de hydridegeneratie wordt verwezen naar WAC-procedure WAC/III/B/012.

7 PROCEDURE

- §10.1: 2 (kalibratieblanco + standaard) of meerpunts-kalibratie wordt toegestaan
- §10.3: correctie voor procedure blanco is facultatief. Controle en opvolgen van de waarde van procedureblanco is wel noodzakelijk.

In onderstaand schema wordt volgende verduidelijking van procedure geformuleerd:



- QC 1: onafhankelijk aangemaakte controle;
- Analysereeks van ± 20 monsters: dit is een indicatief aantal, de laboratoria moeten kunnen aantonen dat de frequentie van uitvoering van QA/QC zo gekozen is dat het voldoende kwaliteitsgaranties biedt;
- Drift: kalibratiestandaard of onafhankelijke standaard (QC1), minstens om de 20 monsters en de gemeten concentratie mag maximum 10% afwijken van de werkelijke waarde;
- Bij monsters met een destructie/uitloging dient per reeks (run van een digestie/uitlogingstoestel) een procedureblanco en een QC monster (QC2) die beiden de hele procedure hebben doorlopen, mee geanalyseerd te worden.

Voor de kwaliteitscontroles QC1 en QC2 kan gebruik gemaakt worden van het controlemonster LCS zoals beschreven in §8 Kwaliteitscontrole.

Het ondervangen van mogelijke memory effecten dient bijkomend voorzien te worden.

8 KWALITEITSCONTROLE

De QA/QC richtlijnen zoals beschreven in ISO 11885 zijn niet van toepassing.

Volgende kwaliteitscontroles (en bijkomende criteria) worden bij elke meetreeks (minstens 1x per dag) uitgevoerd:

QA/QC oplossing	Definitie	Criterium
Procedureblanco	Procedureblanco	Minimum: $\geq -\frac{1}{2}$ wettelijke rapportagegrens of $\geq -\frac{1}{2}$ LOQ Maximum: $\leq \frac{1}{2}$ wettelijke rapportagegrens of $\leq \frac{1}{2}$ LOQ
LOQ	Bepalingsgrens (Limit of Quantification)	$6 \times \text{st. dev.} = \text{LOQ} \leq \text{wettelijke RG} (*) / \text{controle gevoeligheid}$
LCS	Controlestaal (Laboratory Control Sample)	$\pm 20 \% \text{ juiste waarde}$
Interne standaard	Interne standaard	70 -130 % terugvinding

Opmerking: De wettelijke rapportagegrenzen/LOQ_{max} zijn beschreven in Bijlage B van WAC/VI/A/001

Prestatiekenmerken. (*) Het criterium " $6 \times \text{st. dev.} = \text{LOQ} \leq \text{wettelijke RG}$ " moet bij de validatie en minimaal jaarlijks bij de evaluatie van de prestatiekenmerken worden aangetoond.

Samenstelling van de controlemonsters (LOQ en LCS) voor de matrices oppervlaktewater (OW), afvalwater (AW), grondwater (GW) en drinkwater (DW):

	L O Q A W	LOQ OW* **	LO Q GW/D W	L C S A W	L C S O W	LCS GW/D W
element	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
aluminium	10 0		1 0	30 0		3 0
antimoon	10	10	3	30	30	9
arseen	5	2,5	3	15	7, 5	9
barium	10	10	1 0	30	30	3 0
beryllium	1	0,5		3	1, 5	
boor	10 0	100	100	30 0	30 0	3 0 0

cadmium	0,8	0,4	0,75	2,4	1,2	2,25
cerium	10			30		
chromium	10	10	10	30	30	30
fosfor*	(300)	(50)		(900)	(150)	
ijzer	100		100	300		300
kobalt	0,6	0,3	0,3	1,8	0,9	0,9
koper	10	10	10	30	30	30
lood	10	10	3	30	30	9

	L O Q A W	LOQ OW* **	LO Q GW/ DW	L C S A W	L C S O W	LCS GW/D W
element	µg /l	µg/l	µg /l	µg /l	µg /l	µg /l
mangaan	10		10	30		30
molybdeen	10	10		30	30	
nikkel	10	10	10	30	30	30
seleen	5	3	3	15	9	9
tellurium	10	10		30	30	
thallium	1	0,5		3	1, 5	
tin	10	10		30	30	
titanium	10	10		30	30	
uranium	0, 5	0,3		1, 5	0, 9	
vanadium	5	2,5		15	7, 5	
zilver	1	0,4		3	1, 2	
zink	50	50	50	15 0	15 0	15 0
Element/ matrix	m g/ l	mg/l	m g/l	mg /l	m g/ l	m g/l
calcium	20 0	100	10 0	20 0	10 0	10 0
chloride	10 0	50	50	10 0	50	50
fosfor*	(1)	(0,5)	(0, 5)	(1)	(0 ,5)	(0, 5)
zwavel	50	25	25	50	25	25
magnesium	20	10	10	20	10	10
natrium	50	25	25	50	25	25
kalium	10	5	5	10	5	5
koolstof**	20	10	10	20	10	10

*In de LOQ en LCS oplossing kan het element P facultatief worden toegevoegd als te bepalen element of als matrix element.

** Als koolstofbron voor de matrixoplossing kan natriumacetaat gebruikt worden.

***De gehalten opgenomen in de tabel gelden voor de bepaling van de LOQ van het totaal gehalte van elementen. De bepaling van de LOQ van het opgelost gehalte van elementen kan worden uitgevoerd op minstens een 2.5 x verdunning hiervan (in eenzelfde matrixsamenstelling).

Opmerking: De beschreven gehalten voor de LOQ oplossing zijn maximale waarden.

9 REFERENTIES

- ISO 11885:2007 Water quality – Determination of selected elements by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES).
- K. Tirez, F. Beutels, K. Duyssens, W. Brusten, W. Wouters, C. Vanhoof en G. Vanermen, *Vastleggen rapportagegrenzen voor afval-, grond- en oppervlaktewater in het kader van de erkenningen*, VITO rapport 2015/SCT/R/050,
https://reflabos.vito.be/onderzoeksrapporten/2014_Rapport_rapportagegrenzen_finaal.pdf
- K. Tirez, F. Beutels, K. Duyssens, W. Brusten, C. Vanhoof, *Rapportagegrenzen voor afval-, grond- en oppervlaktewater in het kader van de erkenningen – innovatieve ICP-MS methodes*, VITO rapport 2015/SCT/R/0506,
https://reflabos.vito.be/onderzoeksrapporten/2016_rapport_rapportagegrenzen_LNE.pdf

Bepaling van elementen met inductief gekoppeld plasma - massaspectrometrie (ICP-MS)

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft een methode voor de bepaling van aluminium, antimoon, arseen, barium, beryllium, bismuth, boor, cadmium, cesium, calcium, cerium, chroom, dysprosium, erbium, europium, fosfor, gadolinium, gallium, germanium, goud, hafnium, holmium, ijzer, indium, iridium, kalium, kobalt, koper, kwik, lanthanum, lithium, lood, lutetium, magnesium, mangaan, molybdeen, neodymium, natrium, nikkel, palladium, platinum, praseodymium, rubidium, rhenium, rhodium, ruthenium, samarium, scandium, seleen, strontium, terbium, tellurium, thorium, thallium, thulium, tin, titanium, uranium en zijn isotopen, vanadium, wolfram, yttrium, ytterbium, zilver, zink en zirconium in water (bijvoorbeeld drinkwater, oppervlaktewater, grondwater en afvalwater).

Rekening houdend met de specifieke en bijkomende interferenties, kunnen deze elementen ook bepaald worden in de destructievlloeistoffen van voornoemde watermatrices.

Het werkgebied is afhankelijk van de matrix en de aanwezige interferenten. In drinkwater en relatief weinig verontreinigde waters, ligt voor de meeste elementen de bepalingsgrens tussen 0.1 µg/l en 1.0 µg/l.

De aantoonbaarheidsgrens van de meeste elementen wordt beïnvloed door blanco contaminatie en hangt in sterke mate af van de laboratoriumomgeving.

De bepalingsgrens is hoger in deze monsters waar de bepaling wordt gestoord door interferenties of in geval van memory effecten.

De methode zoals beschreven in NBN EN ISO 17294-2:2016 is van toepassing mits volgende aanvullingen.

2 AANVULLINGEN BIJ NBN EN ISO 17294-2:2016

- § 1 Toepassingsgebied:
 - Tabel 1: De weergegeven bepalingsgrenzen zijn indicatief.
 - Omwille van de variabiliteit in isotopische samenstelling van Pb in de natuur, dienen de signaal intensiteiten van ²⁰⁶Pb, ²⁰⁷Pb en ²⁰⁸Pb gesommeerd te worden.
- § 3.1 Termen en definities
 - Niet van toepassing
 - Voor een beschrijving van de te hanteren definities wordt verwezen naar WAC/I/B/001
- § 5 Interferenties
 - De controle op de aanwezigheid van mogelijke interferenten is noodzakelijk, maar kan op verschillende manieren worden ingevuld binnen een laboratorium, zoals:
 - Het meten van 2 isotopen per element om spectrale interferenties op te sporen is noodzakelijk (indien analytisch haalbaar en met de minste interferentie) en de beoordeling hiervan dient als “expert judgement” te worden onderbouwd. Voor elk element wordt aangegeven welke de aanbevolen isotoop is, alsook de alternatieve isoto(o)p(en) indien beschikbaar.
 - Het uitvoeren van een voorafgaandelijke screening van de gekende interferenten bij een welgedefinieerde matrix

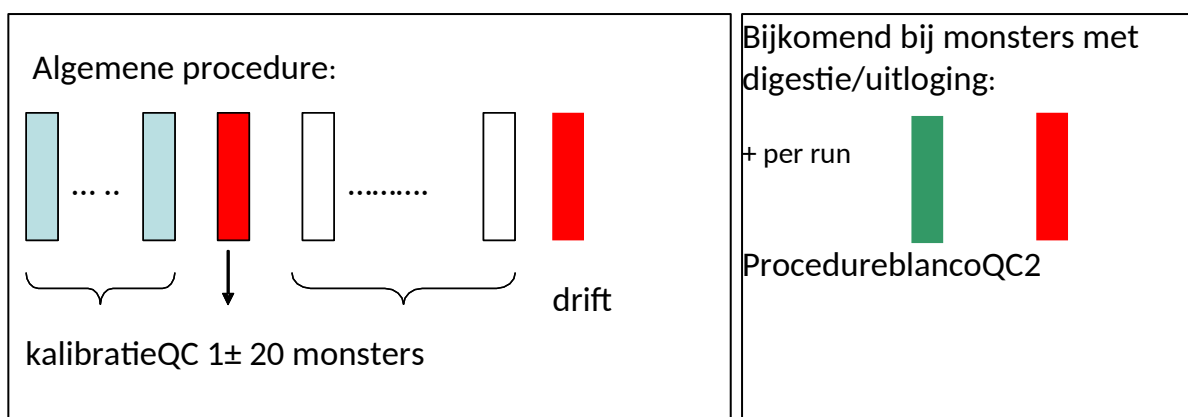
- § 6 Reagentia
 - Andere standaardconcentraties en –oplossingen, controle oplossingen, optimalisatieoplossingen en matrixoplossingen mogen gebruikt worden mits deze voldoen voor deze toepassing.
 - § 7 Apparatuur
 - Recipiënten moeten niet gespoeld worden met warm verdund salpeterzuur, de zuiverheid ervan wordt gecontroleerd en opgevolgd via analyse van blanco's.
 - § 8 Monstername
 - Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.
 - §8 Bij de bepaling van Ag is een bijkomende stabilisatie nodig met HCl. Bij de bepaling van Sb is het toevoegen van HCl als stabilisator optioneel. Daarnaast kan voor de stabilisatie van Sb, mits validatie, ook een andere stabilisator (bv. tartaarzuur, HF) worden gebruikt.
 - § 9 Monstervoorbehandeling
 - § 9.1 Het al dan niet toepassen van een filtratie wordt geëvalueerd door een visuele controle.
 - § 10 Procedure
 - § 10.1 'Adjust' the instrument with the aid of the optimization solution... moet geïnterpreteerd te worden als 'controleer/optimaliseer'.
 - § 10.1 Het toevoegen van een interne standaard (reference-element solution) kan on-line worden uitgevoerd.
 - § 10.3 De grootte van de interferenties (bij gebruik van correctiefactoren) of de eliminatie van interferenten (bij gebruik van collision of reaction cell) dient gecontroleerd te worden. Minimaal uit te voeren procedures zijn:
 - Het analyseren van de synthetische controle oplossing (ICS) met de aanwezige interferenten (zie § **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**).
 - De interferentie van Mo op Cd wordt onderzocht tijdens de validatie en hiervoor wordt een criterium vooropgesteld. Bij de analyse van afvalwater wordt het Mo gehalte opgevolgd.
- Bijkomend kunnen volgende werkwijzen worden gebruikt:
- Toevoegen van interferenten (bv. Cl, S, P, C) aan de onafhankelijke controle
 - Analyse van een gecertificeerd referentiemateriaal met een matrix representatief voor de te analyseren monsters
 - Additie van interferenten aan het te analyseren monster

In onderstaand schema wordt volgende verduidelijking van procedure geformuleerd:

- QC 1: onafhankelijk aangemaakte controle;
- Analysereeks van ± 20 monsters: dit is een indicatief aantal, de laboratoria moeten kunnen aantonen dat de frequentie van uitvoering van QA/QC zo gekozen is dat het voldoende kwaliteitsgaranties biedt;
- Drift: kalibratiestandaard of onafhankelijke standaard (QC1), minstens om de 20 monsters en de gemeten concentratie mag maximum 10% afwijken van de werkelijke waarde;
- Bij monsters met een destructie/uitloging dient per reeks (run van een digestie/uitlogingstoestel) een procedureblanco en een QC monster (QC2) die beiden de hele procedure hebben doorlopen, mee geanalyseerd te worden.

Voor de kwaliteitscontroles QC1 en QC2 kan gebruik gemaakt worden van het controlemonster LCS zoals beschreven in § **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.** **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden..**

Het ondervangen van mogelijke memory effecten dient bijkomend voorzien te worden.



3 KWALITEITSCONTROLE

Volgende kwaliteitscontroles (en bijkomende criteria) worden bij elke meetreeks (minstens 1x per dag) uitgevoerd:

QA/QC oplossing	Definitie	Criterium
Procedureblanco	Procedureblanco	Minimum: $\geq -\frac{1}{2}$ wettelijke rapportagegrens of $\geq -\frac{1}{2}$ LOQ Maximum: $\leq \frac{1}{2}$ wettelijke rapportagegrens of $\leq \frac{1}{2}$ LOQ
ICS	Interferentie controle oplossing (Interference Check Solution)	$\leq$ wettelijke rapportagegrens of $\leq$ LOQ
LOQ	Bepalingsgrens (Limit of Quantification)	$6 \times \text{st. dev.} = \text{LOQ} \leq \text{wettelijke RG} (*) / \text{controle gevoeligheid}$
LCS	Controlestaal (Laboratory Control Sample)	$\pm 20\%$ juiste waarde
Interne standaard	Interne standaard	70 -130 % terugvinding

Opmerking: De wettelijke rapportagegrenzen/LOQ_{max} zijn beschreven in Bijlage B van WAC/VI/A/001

Prestatiekenmerken. (*) Het criterium " $6 \times \text{st. dev.} = \text{LOQ} \leq \text{wettelijke RG}$ " moet bij de validatie en minimaal jaarlijks bij de evaluatie van de prestatiekenmerken worden aangetoond.

Samenstelling van de controlemonsters (LOQ, ICS en LCS) voor de matrices oppervlaktewater (OW), afvalwater (AW), grondwater (GW) en drinkwater (DW):

	L O Q A W	LOQ OW* **	LO Q GW/D W	I C S A W	I C S O W	ICS GW/D W	L C S A W	L C S O W	LCS GW/D W
element	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
aluminium	100		10				30		30

				0			
antimoon	10	10	3	3	30	9	
				0			
arseen	5	2,5	3	1	7,	9	
				5	5		
barium	10	10	1	3	30	3	
			0	0		0	
beryllium	1	0,5		3	1,		
					5		
boor	100	100	1	3	30	3	
			0	0	0	0	
			0	0		0	

	LOQ AW	LOQ OW**	LOQ GW/DW	ICS AW	ICS OW	ICS GW/DW	LCS AW	LCS OW	LCS GW/DW
element	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
cadmium	0,8	0,4	0,75				2,4	1,2	2,25
cerium	10						30		
chromium	10	10	10				30	30	30
fosfor*	(300)	(50)					(900)	(150)	
ijzer	100		100				300		300
kobalt	0,6	0,3	0,3				1,8	0,9	0,9
koper	10	10	10				30	30	30
kwik	0,15	0,15	0,3				0,3	0,3	1
lood	10	10	3				30	30	9
mangaan	10		10				30		30
molybdeen	10	10					30	30	
nikkel	10	10	10				30	30	30
seleen	5	3	3				15	9	9
tellurium	10	10					30	30	
thallium	1	0,5					3	1,5	
tin	10	10					30	30	
titanium	10	10					30	30	
uranium	0,5	0,3					1,5	0,9	
vanadium	5	2,5					15	7,5	
zilver	1	0,4					3	1,2	
zink	50	50	50				150	150	150
Element/ matrix	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
calcium	200	100	100	300	200	200	200	100	100
chloride	100	50	50	2000	750	750	100	50	50
fosfor*	(1)	(0,5)	(0,5)	100	5	5	(1)	(0,5)	(0,5)

zwavel	50	25	2 5	100	10 0	100	50	25	25
magnesium	20	10	1 0	100	50	50	20	10	10
natrium	50	25	2 5	250	10 0	100	50	25	25
kalium	10	5	5	100	50	50	10	5	5
Koolstof**	20	10	1 0	200	50	50	20	10	10

*In de LOQ en LCS oplossing kan het element P facultatief worden toegevoegd als te bepalen element of als matrix element.

** Als koolstofbron voor de matrixoplossing kan natriumacetaat gebruikt worden.

***De gehalten opgenomen in de tabel gelden voor de bepaling van de LOQ van het totaal gehalte van elementen. De bepaling van de LOQ van het opgelost gehalte van elementen kan worden uitgevoerd op minstens een 2.5 x verdunning hiervan (in eenzelfde matrixsamenstelling).

Opmerking 1: In de LCS oplossingen is het mogelijk dat sporen (contaminanten) van de te bepalen elementen aanwezig zijn. Deze dienen in rekening gebracht te worden voor de verdere evaluatie.

Opmerking 2: De beschreven gehalten voor de LOQ oplossing zijn maximale waarden.

4 REFERENTIES

- ISO 17294-1 Water quality – Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) – Part 1: General guidelines
- NBN EN ISO 17294-2:2016 Water quality – Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) – Part 2: Determination of selected elements including uranium isotopes (ISO 17294-2:2016)
- K. Tirez, F. Beutels, K. Duyssens, W. Brusten, W. Wouters, C. Vanhoof en G. Vanermen, *Vastleggen rapportagegrenzen voor afval-, grond- en oppervlaktewater in het kader van de erkenningen*, VITO rapport 2015/SCT/R/050, https://esites.vito.be/sites/reflabos/onderzoeksrapporten/Online%20documenten/2014_Rapport_rapportagegrenzen_finaal.pdf
- K. Tirez, F. Beutels, K. Duyssens, W. Brusten, C. Vanhoof, *Rapportagegrenzen voor afval-, grond- en oppervlaktewater in het kader van de erkenningen – innovatieve ICP-MS methodes*, VITO rapport 2015/SCT/R/0506, https://esites.vito.be/sites/reflabos/onderzoeksrapporten/Online%20documenten/2016_rapport_rapportagegrenzen_LNE.pdf

Bepaling van kwik

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de bepaling van kwik in drink-, oppervlakte-, grond-, regen- en afvalwater.

Deze procedure beschrijft 2 normmethoden voor de bepaling van Hg:

- NBN EN ISO 12846:2012 Water quality – Determination of mercury – Method using atomic absorption spectrometry (AAS) with and without enrichment.
- NBN EN ISO 17852:2008 Water quality – Determination of mercury – Method using atomic fluorescence spectrometry (AFS)

De Internationale standaard NBN EN ISO 12846:2012 is een state of the art revisie van bestaande standaarden voor de bepaling van Hg met AAS met en zonder aanrijkingsstap, waarbij de voordelen van beide methoden werden gecombineerd te samen met nieuwe ontwikkeling en technieken. De volgende methoden werden opgenomen:

- Methoden zonder aanrijking:
 - ISO 5666:1999 Water quality – Determination of mercury
 - EN 1483:2007 Water quality – Determination of mercury
- Methoden met aanrijking:
 - ISO 16590:2000 Water quality – Determination of mercury after enrichment by amalgamation
 - EN 12338:1998 Water quality – Determination of mercury after enrichment by amalgamation

2 NBN EN ISO 12846:2012

Deze standaard beschrijft 2 methoden voor de bepaling van Hg in drink-, oppervlakte-, grond-, regen- en afvalwater met atomaire absorptie spectrometrie. Paragraaf 6 van deze norm beschrijft de methode met aanrijkingsstap door amalgamatie van Hg op bv. een Au/Pt adsorber. Paragraaf 7 beschrijft de methode zonder aanrijking en wordt routinematig toegepast.

De methode met aanrijking heeft gewoonlijk een praktisch werkgebied van 0.01 µg/l tot 1 µg/l.
De methode zonder aanrijking heeft gewoonlijk een praktisch werkgebied vanaf 0.05 µg/l.

De procedure zoals beschreven in NBN EN ISO 12846:2012 is van toepassing mits volgende aanvullingen/aanpassingen:

- § 3 Verdere duiding ivm ontsluitingsmethoden wordt beschreven in WAC/III/B.
- § 5 Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.
- § 5 Veld blanco's zijn optioneel, indien deze niet opgelegd zijn in de bemonsteringsprocedure.
- § 6.4 en 7.6 Toevoegen van hydroxylamine is enkel van toepassing bij gebruik van bromaat/bromide reagens.
- § 6.1 en 7.1 Andere reagentia en concentraties mogen gebruikt worden mits deze voldoen voor deze toepassing.
- § 7.4 Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.
- § 7.4 Verdere duiding ivm ontsluitingsmethoden wordt beschreven in WAC/III/B.

- § 7.4 Veld blanco's zijn optioneel, indien deze niet opgelegd zijn in de bemonsteringsprocedure.
- ~~§ 8 Bij het afronden van de meetwaarden dient rekening gehouden te worden met de meetonzekerheid.~~

3 NBN EN ISO 17852:2008

Deze standaard beschrijft een methode voor de bepaling van Hg in drink-, oppervlakte-, grond-, regen- en afvalwater met atomaire fluorescentie spectrometrie.

Het potentiële lineaire bereik van de methode is ongeveer van 1 ng/l tot 100 µg/l. In praktijk overspant het werkgebied echter een concentratiebereik van 10 ng/l tot 10 µg/l.

De procedure zoals beschreven in NBN EN ISO 17852:2008 is van toepassing mits volgende aanvullingen/aanpassingen:

- § 3 Verdere duiding ivm ontsluitingsmethoden wordt beschreven in WAC/III/B.
- § 3 De methode mag ook toegepast worden gebruikmakend van een aanrijdingsstap door amalgamatie van Hg op bv. een Au/Pt adsorber.
- § 5 Andere reagentia en concentraties mogen gebruikt worden mits deze voldoen voor deze toepassing.
- § 7 Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.
- § 7 Verdere duiding ivm ontsluitingsmethoden wordt beschreven in WAC/III/B.
- § 7 Veld blanco's zijn optioneel, indien deze niet opgelegd zijn in de bemonsteringsprocedure.
- § 9.1 Toevoegen van ascorbinezuur is enkel van toepassing bij gebruik van bromaat/bromide reagens.
- § 9.1 Veld blanco's zijn optioneel, indien deze niet opgelegd zijn in de bemonsteringsprocedure.
- ~~§ 9.3 Bij het afronden van de meetwaarden dient rekening gehouden te worden met de meetonzekerheid.~~

4 KWALITEITSCONTROLE

Volgende kwaliteitscontroles (en bijkomende criteria) worden bij elke meetreeks (minstens 1x per dag) uitgevoerd:

QA/QC oplossing	Definitie	Criterium
Procedureblanko	Procedureblanko	Minimum: $\geq -\frac{1}{2}$ wettelijke rapportagegrens of $\geq -\frac{1}{2}$ LOQ Maximum: $\leq \frac{1}{2}$ wettelijke rapportagegrens of $\leq \frac{1}{2}$ LOQ
LOQ	Bepalingsgrens (Limit of Quantification)	$6 \times \text{st. dev.} = \text{LOQ} \leq \text{wettelijke RG} (*) / \text{controle gevoeligheid}$
LCS	Controlestaal (Laboratory Control Sample)	$\pm 20 \% \text{ juiste waarde}$

Opmerking: De wettelijke rapportagegrenzen/LOQ_{max} zijn beschreven in Bijlage B van WAC/VI/A/001

Prestatiekenmerken. (*) Het criterium "6 x st. dev. = LOQ ≤ wettelijke RG" moet bij de validatie en minimaal jaarlijks bij de evaluatie van de prestatiekenmerken worden aangetoond.

Samenstelling van de controlemonsters (LOQ en LCS) voor de matrices oppervlaktewater (OW), afvalwater (AW), grondwater (GW) en drinkwater (DW):

	L O Q A W	LO Q OW **	LO Q GW/D W	L C S A W	L C S O W	LCS GW/D W
Element	μ g/ l	μg /l	μg/l	μg/ l	μg /l	μg /l
kwik	0, 15	0, 15	0,3	0,3	0, 3	1
Element/ matrix	m g/ l	m g/ l	mg/l	mg /l	m g/ l	mg /l
calcium	20 0	10 0	100	20 0	10 0	10 0
chloride	10 0	50	50	10 0	50	50
fosfor	(1)	(0 ,5)	(0,5)	(1)	(0 ,5)	(0, 5)
zwavel	50	25	25	50	25	25
magnesium	20	10	10	20	10	10
natrium	50	25	25	50	25	25
kalium	10	5	5	10	5	5
koolstof*	20	10	10	20	10	10

* Als koolstofbron voor de matrixoplossing kan natriumacetaat gebruikt worden.

** Het gehalte opgenomen in de tabel geldt voor de bepaling van de LOQ van het totaal gehalte van Hg. De bepaling van de LOQ van het opgelost gehalte van Hg kan worden uitgevoerd op minstens een 2.5 x verdunning hiervan (in eenzelfde matrixsamenstelling).

Opmerking: De beschreven gehalten voor de LOQ oplossing zijn maximale waarden.

5 REFERENTIES

- NBN EN ISO 12846:2012 Water quality – Determination of mercury – Method using atomic absorption spectrometry (AAS) with and without enrichment (ISO 12846:2012).
- NBN EN ISO 17852:2008 Water quality - Determination of mercury – Method using atomic fluorescence spectrometry (AFS) (ISO 17852:2006)
- ISO 5666:1999 Water quality – Determination of mercury (vervallen norm)
- EN 1483:2007 Water quality – Determination of mercury (vervallen norm)
- ISO 16590:2000 Water quality – Determination of mercury after enrichment by amalgamation (vervallen norm)
- EN 12338:1998 Water quality – Determination of mercury after enrichment by amalgamation

(vervallen norm)

Methoden voor de bepaling van anionen

INHOUD

1	Drinkwater	3
2	Afvalwater	6
3	Grondwater	9
4	Oppervlaktewater	11

Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.

1 DRINKWATER

Voor de matrix drinkwater kunnen de verschillende analysemethoden, mits toepassing van de geschikte conservering, rechtstreeks op het monster worden uitgevoerd. Er dient geen voorafgaandelijk destructie/voorbehandeling te worden uitgevoerd.

De volgende analysemethoden kunnen gebruikt worden voor het bepalen van anionen in drinkwater:

Bromaat	• NBN EN ISO 15061:2001 Water quality - Determination of dissolved bromate - Method by liquid chromatography of ions (ISO 15061:2001) • NBN EN ISO 11206:2013 Water quality - Determination of dissolved bromate -Method using ion chromatography (IC) and post column reaction (PCR) (ISO 11206:2011) • EPA Method 321.8: Determination of bromate in drinking waters by Ion Chromatography Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry • EPA Method 557: Determination of haloacetic acids, bromate, and dalapon in drinking water by ion chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry (IC-ESI-MS/MS)
Chloride (a)	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 10304-4:1999 Water quality - Determination of dissolved anions using liquid chromatography of ions. Part 4: Determination of chlorate, chloride and chlorite in water with low contamination (ISO 10304-4:1997) • ISO 9297:1989 Water quality - Determination of chloride - Silver nitrate titration with chromate indicator (Mohr's method) • NBN EN ISO 15682:2001 Water quality - Determination of chloride by flow analysis (CFA and FIA) and photometric or potentiometric detection (EN ISO 15682:2000) • ISO 15923-1:2013 Water quality - Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection - Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Chloraat	• NBN EN ISO 10304-4:1999 Water quality - Determination of dissolved anions using liquid chromatography of ions. Part 4: Determination of chlorate, chloride and chlorite in water with low contamination (ISO 10304-4:1997)
Chloriet	• NBN EN ISO 10304-4:1999 Water quality - Determination of dissolved anions using liquid chromatography of ions. Part 4: Determination of chlorate, chloride and chlorite in water with low contamination (ISO 10304-4:1997)
Perchloraat	• EPA Method 314 Determination of Perchlorate in Drinking Water Using Ion Chromatography • EPA Method 332 Determination of Perchlorate in Drinking Water Using Ion Chromatography with suppressed conductivity and electrospray ionization mass spectrometry

Nitraat (c)	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 13395:1996 Water quality - Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analyses (CFA en FIA) and spectrometric detection (ISO 13395:1996) (WAC/III/D/031) • ISO 7890-3: 1988 Water quality - Determination of nitrate - Part 3: Spectrometric method using sulfosalicylic acid • ISO 15923-1:2013 Water quality - Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection - Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Nitriet	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 13395:1996 Water quality - Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analyses (CFA en FIA) and spectrometric detection (ISO 13395:1996) (WAC/III/D/031) • NBN EN 26777:1993 Water quality - Determination of nitrite - Molecular absorption spectrometric method (ISO 6777:1984) • ISO 15923-1:2013 Water quality - Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection - Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Fluoride	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • ISO 10359-1:1992 Water quality - Determination of fluoride - Part 1: Electrochemical probe method for potable and light polluted water (WAC/III/C/020)(b) • WAC/III/C/022 Bepaling van fluoride met doorstroomanalyse
Sulfaat	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • ISO 22743:2006 Water quality - Determination of sulfates - Method by continuous flow analysis (CFA) • ISO 15923-1:2013 Water quality - Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection - Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)

- (a) Voor de bepaling van chloride wordt bij toepassing van de titrimetrische methode, de doorstroomanalysemethode en de discrete analyser steeds een totaal halogeen gehalte (chloride, bromide, jodide) bepaald. Ionenchromatografie daarentegen is in staat om selectief chloride te meten.

- (b) Voor de bepaling van fluoride met ion-selectieve elektrode volgens ISO 10359-1 wordt het gebruik van de buffer zoals beschreven in DIN 38405-D4 aanbevolen. De validatiegegevens opgenomen in ISO 10359-1 zijn eveneens bepaald op basis van deze buffer.
- (c) Opmerking op het verslag indien de berekende meetonzekerheid bij een verschilmeting > 15% (meetonzekerheid opgenomen in het Besluit kwaliteit en levering van water, bestemd voor menselijke consumptie)

2 AFVALWATER

De volgende analysemethoden kunnen gebruikt worden voor het bepalen van anionen in afvalwater:

Chloride (a)	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • ISO 9297:1989 Water quality - Determination of chloride - Silver nitrate titration with chromate indicator (Mohr's method) • NBN EN ISO 15682:2001 Water quality - Determination of chloride by flow analysis (CFA and FIA) and photometric or potentiometric detection (EN ISO 15682:2000) • ISO 15923-1:2013 Water quality - Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection - Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Nitraat (d)	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 13395:1996 Water quality - Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analyses (CFA en FIA) and spectrometric detection (ISO 13395:1996) (WAC/III/D/031) • ISO 7890-3: 1988 Water quality - Determination of nitrate - Part 3: Spectrometric method using sulfosalicylic acid • ISO 15923-1:2013 Water quality - Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection - Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Nitriet	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 13395:1996 Water quality - Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analyses (CFA en FIA) and spectrometric detection (ISO 13395:1996) (WAC/III/D/031) • NBN EN 26777:1993 Water quality - Determination of nitrite - Molecular absorption spectrometric method (ISO 6777:1984) • ISO 15923-1:2013 Water quality - Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection - Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Fluoride	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate

	(ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • ISO 10359-1:1992 Water quality – Determination of fluoride – Part 1: Electrochemical probe method for potable and light polluted water (WAC/III/C/020)(b) • WAC/III/C/022 Bepaling van fluoride met doorstroomanalyse
Totaal orthofosfaat (c)	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 15681-1: 2005 Water quality – Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA) – Part 1: Method by flow injection analysis (FIA) (ISO 15681-1: 2003) • NBN EN ISO 15681-2: 2005 Water quality – Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA) – Part 2: Method by continuous flow analysis (CFA) (ISO 15681-2: 2003) (WAC/III/C/010) • NBN EN ISO 6878: 2004 Water quality – Determination of phosphorus – Ammonium molybdate spectrometric method (ISO 6878: 2004) • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Sulfaat	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • ISO 22743:2006 Water quality - Determination of sulfates - Method by continuous flow analysis (CFA) • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Sulfide (Opgeloste en in zuur milieu oplosbare)	• WAC/III/C/040 Potentiometrische bepaling van sulfide • WAC/III/C/041 Spectrofotometrische bepaling van sulfide
Chroom(VI)	• NBN EN ISO 10304-3:1997 Water quality - Determination of dissolved anions using liquid chromatography of ions. Part 3: Determination of chromate, iodide, sulfite, thiocyanate and thiosulfate (ISO 10304-3:1997) • EPA 218.6:1996 Determination of dissolved hexavalent chromium in drinking water, groundwater and industrial wastewater effluents by ion chromatography (WAC/III/C/050) • EPA 218.7:2011 Determination of hexavalent chromium in drinking water by ion chromatography with post-column derivatization and UV-Visible detection (WAC/III/C/050) • EPA 7199:1996 Determination of hexavalent chromium in drinking water, groundwater and industrial waste water effluents by ion chromatography (WAC/III/C/050) • ISO 11083:1994 Water quality – Determination of chromium(VI) –

	Spectrometric method using 1,5 diphenylcarbazine (e)
Vrije en totaal chloor	• NBN EN ISO 7393-2:2018 Water quality -- Determination of free chlorine and total chlorine -- Part 2: Colorimetric method using N,N-diethyl-1,4-phenylenediamine, for routine control purposes • NBN EN ISO 7393-1:2000 Water quality - Determination of free chlorine and total chlorine - Deel 1 : Titrimetric method using N,N-diethyl-1,4-phenylenediamine (ISO 7393-1:1985) • EPA method 330.5 Chlorine, Total Residual (Spectrophotometric, DPD)
Vrije cyanide	• NBN EN ISO 14403-2: 2012 Water quality - Determination of total cyanide and free cyanide using flow analysis (FIA and CFA) – Part 2: Method using continuous flow analysis (CFA) (ISO 14403-2: 2012) (WAC/III/C/030)

- (a) Voor de bepaling van chloride wordt bij toepassing van de titrimetrische methode, de doorstroomanalyse methode en de discrete analyser steeds een totaal halogeen gehalte (chloride, bromide, jodide) bepaald. Ionenchromatografie daarentegen is in staat om selectief chloride te meten.
- (b) Voor de bepaling van fluoride met ion-selectieve elektrode volgens ISO 10359-1 wordt het gebruik van de buffer zoals beschreven in DIN 38405-D4 aanbevolen. De validatiegegevens opgenomen in ISO 10359-1 zijn eveneens bepaald op basis van deze buffer.
- (c) Het al dan niet te velde filtreren van het monster resulteert in het onderscheid tussen opgelost en totaal orthofosfaat. Er wordt aanbevolen om in het kader van de erkenningen de parameter totaal orthofosfaat te bepalen.
- (d) Opmerking op het verslag indien de berekende meetonzekerheid bij een verschilmeting > 30% (meetonzekerheid opgenomen in VLAREM II Bijlage 4.2.5.2)
- (e) Bij toepassing van de rechtstreekse methode zonder IC scheiding conform ISO 11083:1994 zijn verschillende interferenties mogelijk. Bij aanwezigheid van oxiderende en/of reducerende bestanddelen dient de in de norm beschreven voorbehandelingsprocedure gevolgd te worden.

3 GRONDWATER

De volgende analysemethoden kunnen gebruikt worden voor het bepalen van anionen in grondwater:

Chloride (a)	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 10304-4:1999 Water quality - Determination of dissolved anions using liquid chromatography of ions. Part 4: Determination of chlorate, chloride and chlorite in water with low contamination (ISO 10304-4:1997) • ISO 9297:1989 Water quality – Determination of chloride – Silver nitrate titration with chromate indicator (Mohr's method) • NBN EN ISO 15682:2001 Water quality – Determination of chloride by flow analysis (CFA and FIA) and photometric or potentiometric detection (EN ISO 15682:2000) • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Nitraat (c)	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 13395:1996 Water quality – Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analyses (CFA en FIA) and spectrometric detection (ISO 13395:1996) (WAC/III/D/031) • ISO 7890-3: 1988 Water quality – Determination of nitrate – Part 3: Spectrometric method using sulfosalicylic acid • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Nitriet	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 13395:1996 Water quality – Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analyses (CFA en FIA) and spectrometric detection (ISO 13395:1996) (WAC/III/D/031) • NBN EN 26777:1993 Water quality – Determination of nitrite – Molecular absorption spectrometric method (ISO 6777:1984) • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and

	sulfaat (WAC/III/C/002)
Fluoride	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • ISO 10359-1:1992 Water quality – Determination of fluoride – Part 1: Electrochemical probe method for potable and light polluted water (WAC/III/C/020)(b) • WAC/III/C/022 Bepaling van fluoride met doorstroomanalyse
Sulfaat	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • ISO 22743:2006 Water quality - Determination of sulfates - Method by continuous flow analysis (CFA) • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)

- (a) Voor de bepaling van chloride wordt bij toepassing van de titrimetrische methode, de doorstroomanalysemethode en de discrete analyser steeds een totaal halogeen gehalte (chloride, bromide, jodide) bepaald. Ionenchromatografie daarentegen is in staat om selectief chloride te meten.
- (b) Voor de bepaling van fluoride met ion-selectieve elektrode volgens ISO 10359-1 wordt het gebruik van de buffer zoals beschreven in DIN 38405-D4 aanbevolen. De validatiegegevens opgenomen in ISO 10359-1 zijn eveneens bepaald op basis van deze buffer.
- (c) Opmerking op het verslag indien de berekende meetonzekerheid bij een verschilmeting > 30%.

4 OPPERVLAKTEWATER

De volgende analysemethoden kunnen gebruikt worden voor het bepalen van anionen in oppervlaktewater:

Chloride (a)	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 10304-4:1999 Water quality - Determination of dissolved anions using liquid chromatography of ions. Part 4: Determination of chlorate, chloride and chlorite in water with low contamination (ISO 10304-4:1997) • ISO 9297:1989 Water quality – Determination of chloride – Silver nitrate titration with chromate indicator (Mohr's method) • NBN EN ISO 15682:2001 Water quality – Determination of chloride by flow analysis (CFA and FIA) and photometric or potentiometric detection (EN ISO 15682:2000) • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Nitraat (d)	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 13395:1996 Water quality – Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analyses (CFA en FIA) and spectrometric detection (ISO 13395:1996) (WAC/III/D/031) • ISO 7890-3: 1988 Water quality – Determination of nitrate – Part 3: Spectrometric method using sulfosalicylic acid • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Nitriet	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 13395:1996 Water quality – Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analyses (CFA en FIA) and spectrometric detection (ISO 13395:1996) (WAC/III/D/031) • NBN EN 26777:1993 Water quality – Determination of nitrite – Molecular absorption spectrometric method (ISO 6777:1984) • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and

	sulfaat (WAC/III/C/002)
Fluoride	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • ISO 10359-1:1992 Water quality – Determination of fluoride – Part 1: Electrochemical probe method for potable and light polluted water (WAC/III/C/020)(b) • WAC/III/C/022 Bepaling van fluoride met doorstroomanalyse
Totaal orthofosfaat (c)	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • NBN EN ISO 15681-1: 2005 Water quality – Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA) – Part 1: Method by flow injection analysis (FIA) (ISO 15681-1: 2003) • NBN EN ISO 15681-2: 2005 Water quality – Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA) – Part 2: Method by continuous flow analysis (CFA) (ISO 15681-2: 2003) (WAC/III/C/010) • NBN EN ISO 6878: 2004 Water quality – Determination of phosphorus – Ammonium molybdate spectrometric method (ISO 6878: 2004) • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)
Sulfaat	• NBN EN ISO 10304-1:2009 Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007) (WAC/III/C/001) • ISO 22743:2006 Water quality - Determination of sulfates - Method by continuous flow analysis (CFA) • ISO 15923-1:2013 Water quality – Determinations of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection – Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfaat (WAC/III/C/002)

- Voor de bepaling van chloride wordt bij toepassing van de titrimetrische methode, de doorstroomanalysemethode en de discrete analyser steeds een totaal halogeen gehalte (chloride, bromide, jodide) bepaald. Ionenchromatografie daarentegen is in staat om selectief chloride te meten.
- Voor de bepaling van fluoride met ion-selectieve elektrode volgens ISO 10359-1 wordt het gebruik van de buffer zoals beschreven in DIN 38405-D4 aanbevolen. De validatiegegevens opgenomen in ISO 10359-1 zijn eveneens bepaald op basis van deze buffer.
- Het al dan niet te velde filtreren van het monster resulteert in het onderscheid tussen opgelost en totaal orthofosfaat. Er wordt aanbevolen om in het kader van de erkenningen de parameter totaal orthofosfaat te bepalen.
- Opmerking op het verslag indien de berekende meetonzekerheid bij een verschilmeting > 30%.

Bepaling van fluoride met ion selectieve elektrode

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze methode beschrijft de bepaling van fluoride met ion-selectieve elektrode (ISE).

De beschreven methode is toepasbaar voor de analyse van drink-, grond-, oppervlakte- en afvalwater met een fluorideconcentratie van 0.2 mg/l tot 2 g/l.

Bij de bepaling van fluoride in afvalwater moet de terugvinding van een fluoride spike aan het te analyseren monster worden afgetoetst. Indien de terugvinding van deze fluoride spike:

- $\geq 85\%$: rechtstreekse meting
- $< 85\%$: 2 mogelijkheden:
 - verdunnen van het monster tot de terugvinding van een fluoride spike $\geq 85\%$ en mits de vereiste rapportagegrens word gerespecteerd.
 - standaard additie methode waarbij additie op minstens 2 concentratieniveaus wordt uitgevoerd.

Opmerking: Optioneel mag ook de offline destillatie worden toegepast zoals beschreven in:

- Standard methods, 20th edition 1998: 4500-F—B Preliminary distillation step
Opmerking: Het destillaat mag opgevangen worden in een NaOH oplossing.
- ISO 10359-2:1994 Water quality – Determination of fluoride – Part 2: Determination of inorganically bound total fluoride after digestion and distillation, waarbij de digestiestap niet moet toegepast worden

De meting met ion selectieve electrode is beschreven in ISO 10359-1 (DIN 38405-D4) en is van toepassing mits onderstaande aanvullingen.

2 AANVULLINGEN BIJ ISO 10359-1:

- §4 Reagentia en oplossingen:
 - Alle gebruikte reagentia hebben een 'pro analyse' zuiverheidsgraad, het gebruikte water is ultrapuur water.
 - Andere standaardconcentraties en -oplossingen mogen gebruikt worden mits deze liggen binnen het lineair bereik.
 - De samenstelling van de TISAB zoals beschreven in ISO 10359-1 is anders dan deze beschreven in DIN 38405-D4. De laatste buffer wordt aanbevolen voor sterk verontreinigde watermonsters.
- §6 Monsternamen en conservering:
 - Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.
- §7.2 Meting:
 - **De fluoride meting wordt uitgevoerd op niet-gefiltreerde monsters.**
 - De ISE meting (zowel bij de kalibratie als van onbekende oplossingen) wordt uitgevoerd bij een constante temperatuur $\pm 2^\circ\text{C}$ (range: 20°C - 25°C).
 - Het gebruik van de TISAB buffer zoals beschreven in ISO 10359-1 leidt tot een snellere stabilisatie van de potentiaal in vergelijking met deze beschreven in DIN 38405-D4.
- §7.3 Meting na verhogen van concentratie: niet van toepassing
- §7.4 Kalibratie:

- Een kalibratielijijn wordt (~~dagelijks~~) met minstens 5 standaarden in enkelvoud en wordt geverifieerd met een onafhankelijke controle.
- De theoretische helling van de kalibratielijijn bedraagt 59.16 mV bij 25°C. De waarde van de helling moet gelegen zijn tussen 95% en 102% van de theoretische helling.
- §8 Berekeningen: niet van toepassing
- §10 Test rapport: niet van toepassing

3 REFERENTIES

- ISO 10359-1: 1992: Water quality – Determination of fluoride – part 1: Electrochemical probe method for potable and lightly polluted water
- DIN 38405-D4: 1985: Bestimmung von Fluorid
- NEN 6578:2011 Water - Potentiometrische bepaling van het totale gehalte aan totaal fluoride

Bepaling van opgelost chroom VI in water door ionenchromatografie

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze methode beschrijft de bepaling van chroom VI in water, zoals grond- en afvalwater, na ionchromatografische scheiding, gevolgd door een detectie via geleidbaarheid (ISO 10304-3), via spectrofotometrie na post-kolom reactie (EPA 218.6, EPA 218.7 of EPA 7199) of via ICP-MS.

Hierbij onderscheidt men 2 methoden:

- ~~Rechtstreekse meting met UV-detectie bij 365 nm (ISO 10304-3:1997 Water quality — Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions — Part 3: Determination of chromate, iodide, sulfite, thiocyanate and thiosulfate).~~
- ~~Colorimetrische meting met 1,5-diphenylcarbazine bij 530 nm (EPA 218.6:1996 Determination of dissolved hexavalent chromium in drinking water, groundwater and industrial waste water effluents by ion chromatography).~~

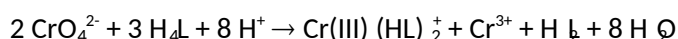
De methode via spectrofotometrie na post-kolom reactie is gevoeliger dan de methode via detectie met geleidbaarheid. De selectie van de methode wordt bijgevolg bepaald door de gevraagde rapporteer-/bepalingsgrens.

~~Opmerking: Bij toepassing van de rechtstreekse methode zonder IC-scheiding conform ISO 11083:1994 zijn verschillende interferenties mogelijk. Bij aanwezigheid van oxiderende en/of reducerende bestanddelen dient de in de norm beschreven voorbehandelingsprocedure gevolgd te worden.~~

In onderstaande procedure is de spectrofotometrische meting met 1,5-diphenylcarbazine (na ionchromatografische scheiding) beschreven. Deze procedure is gebaseerd op EPA 218.6.

2 PRINCIPE

Aan het monster wordt een bufferoplossing (tot pH 9-9.5) toegevoegd. Na filtratie wordt een bepaald volume in de ionenchromatograaf geïnjecteerd en wordt Cr VI als CrO_4^{2-} gescheiden m.b.v. een analytische scheidingskolom. Opgelost hexavalent chroom wordt vervolgens colorimetrisch bepaald met 1,5-diphenylcarbazine in zuur milieu. Chroom (VI) oxideert 1,5-diphenylcarbazine tot 1,5-diphenylcarbazon dat met chroom een rood-violet gekleurd complex vormt.



Met

H_4L = diphenylcarbazine

H_2L = diphenylcarbazon

De gemeten absorpties staan in correlatie met de Cr(VI) concentratie en worden bij een golflengte van 530 nm gemeten.

3 MONSTERVERORBEHANDELING

Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.

4 OPMERKINGEN

- Overbelasting van de kolom door anionen, voornamelijk Cl en SO₄ veroorzaakt een vermindering van het Cr (VI) gehalte. Typische kenmerken van een overbeladen kolom zijn piekvervorming (tailing) en rendement verliezen bij additie.

5 APPARATUUR EN MATERIAAL

5.1 APPARATUUR

Ionenchromatografisch systeem bestaande uit:

- 5.1.1 Reservoir voor het eluens
- 5.1.2 Pompsysteem
- 5.1.3 Geautomatiseerd injectiesysteem (injectievolume is afhankelijk van de concentratie aan Cr(VI) en de gevoeligheid van de detector)
- 5.1.4 Beschermingskolom (optioneel): deze kolom bevat een product dat sterk absorberende organische stoffen en deeltjes verwijderd welke de scheidingskolom kunnen beschadigen.
- 5.1.5 Voorkolom: deze kolom bevat hetzelfde hars als de analytische scheidingskolom en wordt eveneens aangewend om storende componenten te elimineren (bescherming analytische scheidingskolom).
- 5.1.6 Scheidingskolom: met de vereiste karakteristieken. De scheidingskolom dient zodanig geselecteerd te worden dat voor Cr(VI) een goede scheiding wordt bekomen.
- 5.1.7 Reservoir voor het kleurreagens
- 5.1.8 Pomp met reactorcoil (kleurreagens)
- 5.1.9 Spectrofotometer geschikt voor het uitvoeren van metingen bij een golflengte van 530 nm

Het flowdiagram van het ionchromatografisch systeem wordt weergegeven in figuur 1.



BK = beschermingskolom (optioneel)

VK = voorkolom

SK = scheidingskolom

Figuur 1 : Schematische voorstelling van het ionenchromatografisch systeem

5.2 MATERIAAL

- 5.2.1 Maatkolven en maatcilinders
- 5.2.2 Automatische pipetten
- 5.2.3 Donkere glazen flessen
- 5.2.4 Filtreeropstelling met membraanfilters van 0,45 µm of membraanfilter caps van 0,45 µm
- 5.2.5 Polypropyleen flessen

6 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

Andere reagentia en/of concentraties kunnen worden gebruikt mits deze voldoen voor deze toepassing.

6.1 REAGENTIA

- 6.1.1 Ultra puur water: (elektrische geleidbaarheid kleiner dan $0,1 \text{ mS m}^{-1}$, equivalent met een weerstand groter dan $0,01 \text{ M}\Omega \text{ m}$ bij 25°C). Het wordt aangeraden water te gebruiken van een water zuiveringssysteem dat ultra puur water levert met een weerstand groter dan $0,18 \text{ M}\Omega \text{ m}$ (doorgaans door leveranciers uitgedrukt als $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$).

Alle gebruikte reagentia hebben een "pro analyse (p.a.)" zuiverheidsgraad.

- 6.1.2 Ammoniumsulfaat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
6.1.3 Zwavelzuur : 95-96 %
6.1.4 Ammoniumhydroxyde NH_4OH 25 % ($d = 0,91 \text{ kg/l}$)
6.1.5 1,5 diphenylcarbazine $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$ (DPC)
6.1.6 $\text{Na}_2\text{CrO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
6.1.7 Methanol (HPLC)

6.2 OPLOSSINGEN

- 6.2.1 Cr (VI) stockstandaard oplossing: Los $4,501 \text{ g Na}_2\text{CrO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ op in een maatkolf (1 L) en leng aan tot maatstreep. Breng over in een polypropyleen fles.
6.2.2 Reagentiablanc : Breng ultra puur water tot een pH van 9-9,5 met hetzelfde volume aan buffer als de stalen.
6.2.3 Onafhankelijke kwaliteitscontrole standaard
6.2.4 Eluens: Los $33 \text{ g ammoniumsulfaat}$ op in 500 ml ultra puur water en voeg $6,5 \text{ ml}$ ammoniumhydroxide toe. Leng aan tot 1000 ml met ultra puur water.
6.2.5 Kleurreagens: Los $0,5 \text{ g}$ 1,5 diphenylcarbazine op in 100 ml methanol. Voeg ongeveer 500 ml ultra puur water toe. Breng daarna onder roeren voorzichtig 28 ml zwavelzuur bij de waterige oplossing. Leng na afkoelen aan tot 1000 ml met ultra puur water. Dit kleurreagens is stabiel voor 4 tot 5 dagen, maar wordt bij voorkeur steeds vers aangemaakt.
6.2.6 Bufferoplossing: Los $33 \text{ g ammoniumsulfaat}$ op in 75 ml ultra puur water en voeg $6,5 \text{ ml}$ ammoniumhydroxide toe. Leng aan tot 100 ml met ultra puur water.

7 PROCEDURE

7.1 MONSTERVOORBEREIDING

Voor analyse of verdunning wordt het monster goed gehomogeniseerd. Voeg bufferoplossing toe tot pH 9-9.5. Filtreer over een filter van $0.45 \mu\text{m}$.

7.2 METEN

Voor de praktische werking van het ionenchromatografiesysteem wordt verwezen naar de richtlijnen van de producent.

Een kalibratielijijn voor Cr(VI) wordt opgesteld m.b.v. minstens 5 kalibratie oplossingen in het relevante meetgebied. Vanuit de Cr(VI) stockoplossing worden de kalibratie oplossingen met toevoeging van bufferoplossing (tot pH 9-9.5) aangemaakt.

Opmerking: De kalibratieoplossingen en de te analyseren monsters worden in een vergelijkbare matrix aangemaakt.

Na het opstellen van de kalibratielijijn kunnen de voorbehandelde monsters gemeten worden.

8 BEREKENING

Het gehalte van Cr (VI) in de monsteroplossing, uitgedrukt in $\mu\text{g/l}$, wordt aan de hand van de bekomen piekoppervlakten/piekhoogten berekend.

Bij de berekening dient men de aangebrachte verdunning in rekening te brengen.

9 KWALITEITSCONTROLE

Een onafhankelijke kwaliteitscontrole standaard en een blanco moeten worden meegenomen bij elke meetreeks.

10 REFERENTIES

- EPA 218.6:1996 Determination of dissolved hexavalent chromium in drinking water, groundwater and industrial wastewater effluents by ion chromatography.
- ISO 10304-3:1997 Water quality – Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions – Part 3: Determination of chromate, iodide, sulfite, thiocyanate and thiosulfate.
- ~~ISO 11083:1994 Water quality—Determination of chromium(VI)—Spectrometric method using 1,5-diphenylcarbazine.~~
- EPA 218.7:2011 Determination of hexavalent chromium in drinking water by ion chromatography with post-column derivatization and UV-Visible detection.
- EPA Method 7199 Determination of hexavalent chromium in drinking water, groundwater and industrial wastewater effluents by ion chromatography

Bepaling van het chemisch zuurstofverbruik (CZV)

1 TOEPASSINGSGEBIED

- De CZV testmethode wordt aangewend ter controle van de zuurstofverbruikende verontreinigingen (zowel organisch als anorganisch), in oppervlakte- en afvalwater. De methode laat een kwantitatieve bepaling toe van het gehalte aan oxideerbare stoffen in watermonsters, als een indicatie voor de graad van organische verontreiniging.
- De meeste organische en oxideerbare anorganische componenten aanwezig in water worden geoxideerd (in 50% zwavelzuur milieu) met een standaard kaliumdichromaatoplossing ($K_2Cr_2O_7$). De CZV waarde wordt berekend met de hierbij verbruikte hoeveelheid kaliumdichromaat.
- Voor de bepaling van het CZV gehalte in oppervlaktewater wordt de kleinschalig gesloten buismethode (of kuvettentest) toegepast (conform ISO 15705). Volgende methodiek is van toepassing:

Bij een chloride gehalte kleiner dan 1000 mg/l^a:

- Oppervlaktewaters worden standaard geanalyseerd in de **CZV range van 7 tot 125 mg O₂/l** (laag meetgebied), eventueel na verdunning.
- ~~Bij een CZV range van 7 tot 125 mg O₂/l (= routine) wordt het monster standaard gemeten in het laag meetgebied~~
- ~~Bij een CZV range van 125 tot 1000 mg O₂/l wordt het monster gemeten in het hoog meetgebied (125—1000 mg O₂/l)~~
- ~~Bij een CZV waarde > 1000 mg O₂/l wordt het monster verdund tot een CZV gehalte < 1000 mg O₂/l en gemeten in het hoog meetgebied (125—1000 mg O₂/l)~~

Bij een chloride gehalte groter dan 1000 mg/l^a:

- Oppervlaktewaters worden standaard geanalyseerd in de **CZV range van 7 tot 70 mg O₂/l** (laag meetgebied), eventueel na verdunning, met kuvetten hoog Cl gehalte (1 – 20 g Cl/l).
- ~~Bij een CZV range van 7 tot 70 mg O₂/l (= routine) wordt het monster standaard gemeten in het laag meetgebied met kuvetten hoog Cl gehalte (7—70 mg O₂/l)~~
- ~~Bij een CZV range van 70 tot 125 mg O₂/l wordt het monster verdund tot een CZV gehalte < 70 mg O₂/l en gemeten in het laag meetgebied.~~
- ~~Bij een CZV waarde van 125 tot 1000 mg O₂/l wordt het monster gemeten in het hoog meetgebied met kuvettentest hoog Cl gehalte (70—1000 mg O₂/l).~~
- ~~Bij een CZV waarde > 1000 mg O₂/l wordt het monster verdund tot een CZV gehalte < 1000 mg O₂/l en gemeten in het hoog meetgebied met de geschikte kuvetten.~~

Opmerking: De kuvetten voor hoog chloride gehalte zijn toepasbaar voor monsters met een chloride gehalte gelegen tussen 1000 en 20000 mg Cl/l. Bij hogere chloride gehalten wordt een minimale verdunning uitgevoerd.

- Voor de bepaling van het CZV gehalte in afvalwater wordt de kleinschalig gesloten buismethode (of kuvettentest) toegepast (conform ISO 15705). Volgende methodiek is van toepassing:

^a Volgens specificaties leverancier

Bij een chloride gehalte kleiner dan 1000 mg/l^a:

- Afvalwaters worden standaard geanalyseerd in de **CZV range vanaf 70 mg O₂/l (hoog meetgebied)**.
- Bij een CZV waarde < 70 mg O₂/l wordt het monster gemeten in het laag meetgebied (7 – 70 mg O₂/l)
- ~~Bij een CZV range van 70 tot 1000 mg O₂/l (= routine) wordt het monster standaard gemeten in het hoog meetgebied (70—1000 mg O₂/l)~~
- ~~Bij een CZV waarde > 1000 mg O₂/l wordt het monster verdund tot een CZV gehalte < 1000 mg O₂/l en gemeten in het hoog meetgebied (70—1000 mg O₂/l)~~

Bij een chloride gehalte groter dan 1000 mg/l^a:

- Afvalwaters worden standaard geanalyseerd in de **CZV range vanaf 70 mg O₂/l (hoog meetgebied)** met kuvetten hoog Cl gehalte (1 – 20 g Cl/l).
- Bij een CZV waarde < 70 mg O₂/l wordt het monster gemeten in het laag meetgebied (7-70 mg O₂/l) met kuvetten hoog Cl gehalte (1 – 20 g Cl/l).
- ~~Bij een CZV range van 70 tot 1000 mg O₂/l (=routine) wordt het monster standaard gemeten in het hoog meetgebied met kuvetten hoog Cl gehalte (70—1000 mg O₂/l).~~
- ~~Bij een CZV waarde van > 1000 mg O₂/l wordt het monster verdund tot een CZV gehalte < 1000 mg O₂/l en gemeten in het hoog meetgebied met de geschikte kuvetten.~~

Opmerking 1: De kuvetten voor hoog chloride gehalte zijn toepasbaar voor monsters met een chloride gehalte gelegen tussen 1000 en 20000 mg Cl/l. Bij hogere chloride gehalten wordt een minimale verdunning uitgevoerd.

Opmerking 2: Monsters in het meetgebied > 70 mg O₂/l mogen verdund worden zolang na verdunning het gehalte aan CZV > 70 mg O₂/l blijft.

Opmerking 3: Voor het gebruik van de kuvetten voor het CZV meetgebied > 70 mg O₂/l en chloride gehalte > 1000 mg/l moet de voorgeschreven procedure strikt gevolgd worden. Het is belangrijk om de kuvet krachtig te schudden en het monster onmiddellijk na het schudden van de kuvet toe te voegen. Deze 2 stappen moeten achtereenvolgens worden uitgevoerd indien meer dan één kuvet wordt voorbereid. Voor deze kuvetten is centrifugeren noodzakelijk vooraleer de meting uit te voeren.

2 BEPALING VAN CZV MET KUVETTENTEST (ISO 15705)

De methode zoals beschreven in ISO 15705 is van toepassing mits volgende aanvullingen:

- §1 Toepassingsgebied: Voor het toepassingsgebied van de methode (meetgebied in functie van de matrix) wordt verwezen naar §1 van deze WAC procedure
- §1 Toepassingsgebied: titrimetrische methode is niet van toepassing
- §4.3: titrimetrische methode is niet van toepassing
- §6 Reagentia: uitsluitend commercieel beschikbare kuvettentesten (< 1000 mg Cl/l) conform ISO 15705 zijn van toepassing. Informatie over de reagentia gebruikt in het laag CZV meetgebied is beschreven in Annex D van deze normmethode.
- §7 Apparatuur: volgens specificaties van de leverancier voor de digestie en meting van monsters met de hierboven beschreven kuvetten
- §7.1.1 Heating block: minimaal jaarlijkse controle van de temperatuur
- §8 Monsterbehandeling: Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010
- §9 Instrument kalibratie/controle gevoeligheid: Niet van toepassing
- §10.1 Digestie bij (148 ± 3)°C gedurende 2 uur ± 10 min.

- §10.1.5 Blanco controle enkel van toepassing voor het laag CZV meetgebied
- §10.2 Fotometrische detectie: volgens de instructies van de leverancier
- §10.2.3. en §10.3 Titrimetrische detectie is niet van toepassing
- §11.2 Titrimetrische procedure: niet van toepassing
- §13 Test report: niet van toepassing

2.1 RICHTLIJNEN VOORBEHANDELING KUVETTENTEST (CZV GEBIED > 70 MG O₂/L, CL GEHALTE > 1000 MG CL/L)

Bij het gebruik van de kuvettentest (CZV gebied > 70 mg O₂/l en Cl gehalte > 1000 mg Cl/l) is het volgen van het voorgeschreven protocol essentieel. Volgende stappen moet toegepast worden:

- Krachtig schudden van de kuvet om het sediment volledig in suspensie te brengen en onmiddellijk het monster pipetteren. Voer stap 1 en 2 achtereenvolgens uit indien meer dan één kuvet wordt voorbereid. Kuvet onmiddellijk sluiten en krachtig schudden.
- Centrifugatie van de kuvet om sediment volledig te laten bezinken.

2.2 KWALITEITSCONTROLE

Bij elke analysereeks (i.e. per destructieblok en per meetgebied) worden volgende controles meegenomen:

- Bij een chloride gehalte kleiner dan 1000 mg/l:
 - Laag CZV meetgebied:
 - Blanco controle: eis < 7 mg O₂/l

Opmerking: Voor deze analyse worden 2 blanco's gemeten: één blanco voor de autozero van het instrument en één blanco gemeten als monster (= controle).

- Controlemonster: Kaliumwaterstofphtalaat ± 30 mg O₂/l (basis milieukwaliteitsnorm)), opvolging in controlekaart
- Hoog CZV meetgebied: controlemonster: pyridine-2,3-dicarbonzuur 417 mg O₂/l, rendement ≥ 80%

Opmerking: Los 0,3957 g pyridine-2,3-dicarbonzuur op in ultra puur water. Voeg 5 ml H₂SO₄ toe en leng aan tot 1000 ml.

- Bij een chloride gehalte groter dan 1000 mg/l:
 - Laag CZV meetgebied:
 - Blanco controle met hoge Cl concentratie (bijv. 10000 mg/l): eis < 7 mg O₂/l
 - Controlemonster: Kaliumwaterstofphtalaat ± 30 mg O₂/l met hoge Cl concentratie (bijv. 10000 mg/l), opvolging in controlekaart
 - Hoog CZV meetgebied: controlemonster: pyridine-2,3-dicarbonzuur **104.25 of** 417 mg O₂/l (**afh. van het gebruikte meetgebied**) met hoge Cl concentratie (bijv. 10000 mg/l), rendement ≥ 80%

3 REFERENTIES

- ISO 15705:2002 Water quality – Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD) – Small-scale sealed-tube method.

Methoden voor de bepaling van kationen

Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.

DRINKWATER – AFVALWATER – GRONDWATER –OPPERVLAKTEWATER

Voor de diverse matrices kunnen de verschillende analysemethoden, mits toepassing van de geschikte conservering, rechtstreeks op het monster worden uitgevoerd. Er dient geen voorafgaandelijk destructie/voorbehandeling te worden uitgevoerd.

Ammonium	• ISO 7150-1:1984 Water quality – Determination of ammonium – Part 1: Manual spectrometric method (WAC/III/E/020) • NBN EN ISO 11732:2005 Water quality – Determination of ammonium nitrogen – Method by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection (ISO 11732:2005) (WAC/III/E/021) • ~~ISO 5664: 1984 Water quality – Determination of ammonium – Distillation and titration method (WAC/III/E/022)~~ • NBN EN ISO 14911:1999 Water quality – Determination of dissolved Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+} and Ba^{2+} using ion chromatography – Method for water and waste water (ISO 14911:1998) (WAC/III/E/023) • ISO 15923-1:2013 Water quality -- Determination of selected parameters by discrete analysis systems -- Part 1: Ammonium, nitrate, nitrite, chloride, orthophosphate, sulfate and silicate with photometric detection (WAC/III/C/002)

Opmerking: Bij de bepaling van ammonium in grondwater kan analytisch een probleem optreden wat betreft de vooropgestelde aantoonbaarheidsgrens.

Het gehalte ammoniak wordt als volgt berekend uit het ammoniumgehalte:

$$[\text{NH}_3] = \frac{[\text{NH}_4]}{1 + 10^{(0.0902 - \text{pH} + \frac{2730}{273.2 + T})}}$$

Waarbij

$[\text{NH}_3]$: ammoniak gehalte in mg/l

$[\text{NH}_4]$: ammonium gehalte in

mg/l T : temperatuur in °C

pH : zuurtegraad

Bepaling van per- en polyfluoralkylverbindingen (PFAS) in water met LC-MS/MS

INHOUD

1	Doel en toepassingsgebied	3
2	Principe	5
3	Materiaal	5
4	Reagentia en standaarden	6
5	Monsterbewaring	7
6	Analyseprocedure	7
6.1	<i>Extractie</i>	7
6.2	<i>Meting</i>	8
6.2.1	LC-condities	8
6.2.2	MS-condities	9
6.2.3	Identificatie en integratie	12
6.3	<i>Kalibratie</i>	13
6.4	<i>Kwantificatie</i>	13
7	Kwaliteitscontroles	14
7.1	<i>Chromatografische scheiding</i>	14
7.2	<i>Terugvinding van de isotoopgemerkte fluorverbindingen</i>	14
8	Rapportering	14
9	Referenties	15

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De hieronder beschreven analysemethode vervangt de procedure WAC/IV/A/025 van december 2022 en wordt gebruikt voor het bepalen van per- en polyfluoralkylverbindingen (PFAS):

in drink-, grond- en oppervlaktewater
in afvalwater

en is gericht op de kwantificering van volgende componenten: **Tabel**

1: kwantitatieve PFAS

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluor-n-butaanzuur	PFBA	375-22-4
perfluor-n-pentaanzuur	PFPeA	2706-90-3
perfluor-n-hexaanzuur	PFHxA	307-24-4
perfluor-n-heptaanzuur	PFHpA	375-85-9
perfluor-n-octaanzuur	PFOA	335-67-1
perfluor-n-nonaanzuur	PFNA	375-95-1
perfluor-n-decaanzuur	PFDA	335-76-2
perfluor-n-undecaanzuur	PFUnDA	2058-94-8
perfluor-n-dodecaanzuur	PFDoDA	307-55-1
perfluor-n-tetradecaanzuur	PFTeDA	376-06-7
perfluor-n-hexadecaanzuur	PFHxDA	67905-19-5
perfluor-n-butaansulfonzuur	PFBS	375-73-5
perfluor-n-pentaansulfonzuur	PFPeS	2706-91-4
perfluor-n-hexaansulfonzuur	PFHxS	355-46-4
perfluor-n-heptaansulfonzuur	PFHpS	375-92-8
perfluor-n-octaansulfonzuur	PFOS	1763-23-1
perfluor-n-nonaansulfonzuur	PFNS	68259-12-1
perfluor-n-decaansulfonzuur	PFDS	335-77-3
4:2 fluortelomeersulfonzuur	4:2 FTS	757124-72-4
6:2 fluortelomeersulfonzuur*	6:2 FTS	27619-97-2
8:2 fluortelomeersulfonzuur	8:2 FTS	39108-34-4
perfluor-n-octaansulfonamide	PFOSA	754-91-6
N-methylperfluor-n-octaansulfonamide	MePFOS A	31506-32-8
N-ethylperfluor-n-octaansulfonamide	EtPFOSA	4151-50-2
N-methylperfluor-n-octaansulfonamido-azijnzuur	MePFOS AA	2355-31-9
N-ethylperfluor-n-octaansulfonamido-azijnzuur	EtPFOSA A	2991-50-6
8:2 fluortelomeerfosfaat diester	8:2 diPAP	678-41-1
perfluor-2-propoxypropaanzuur	HFPO-DA	13252-13-6
4,8-dioxa-3H-perfluornonaanzuur	DONA	919005-14-4
perfluor-4-ethylcyclohexaansulfonzuur	PFECHS	646-83-3
perfluor-n-butaansulfonamide	PFBSA	30334-69-1

* in DW, GW en OW

De verbindingen kunnen bepaald worden vanaf een concentratie van 10 ng/l voor drink-, grond- en oppervlaktewater en 20 ng/l voor afvalwater.

Opmerkingen:

- Tegelijk kunnen de onderstaande verbindingen bepaald worden. Afhankelijk van de toegepaste methode kunnen hiervoor minder betrouwbare gehalten bekomen als gevolg van onvoldoende terugvinding, verlies door adsorptie of mogelijke interferentie. De gemeten gehalten kunnen in dat geval enkel gerapporteerd worden als indicatief. Deze verbindingen kunnen bepaald worden vanaf 50 ng/l.

Tabel 2: indicatieve PFAS

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluor-n-tridecaanzuur	PFTTrDA	72629-94-8
perfluor-n-octadecaanzuur	PFODA	16517-11-6
perfluor-n-dodecaansulfonzuur	PFDDoDS	79780-39-5
perfluor-n-undecaansulfonzuur	PFUnDS	749786-16-1
perfluor-n-tridecaansulfonzuur	PFTTrDS	791563-89-8
10:2 fluortelomeersulfonzuur	10:2 FTS	120226-60-0
6:2 fluortelomeerfosfaat diester	6:2 diPAP	57677-95-9
6:2/8:2 fluortelomeerfosfaat diester	6:2/8:2 diPAP	943913-15-3
6:2 fluortelomeersulfonzuur*	6:2 FTS	27619-97-2

* in AW

~~Daarnaast kunnen optioneel (wanneer de aanwezigheid vermoed wordt) de onderstaande verbindingen bepaald worden; de bepaling hiervan maakt echter gebruik van een LC-MS methode met een andere mobiele fase~~

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluor-n-octaansulfonamidoazijnzuur	PFOSAA	2806-24-8
6:2 fluortelomeerfosfaat monoester	6:2 PAP	57678-01-0
8:2 fluortelomeerfosfaat monoester	8:2 PAP	57678-03-2

- Van de meeste perfluorverbindingen komt uitsluitend de lineaire vorm voor; de beschikbare standaarden zijn ook lineair. Van een aantal perfluorverbindingen (PFOA, PFOS, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS) kunnen ook vertakte vormen teruggevonden worden, die al dan niet afhankelijk van regelgeving en aard van het water mee gekwantificeerd wordt (zie 6.4). In deze procedure worden voor PFOA, PFOS, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS zowel de lineaire vormen als ~~de som~~ **het totaal** van de lineaire en vertakte vormen bepaald. ~~De som~~ **Het totaal van de lineaire en vertakte vormen**, gerapporteerd als respectievelijk PFOAtotaal, PFOS-totaal, PFOSAtotaal, MePFOSAtotaal, EtPFOSAtotaal en PFHxStotaal, kan

bepaald worden vanaf 50 ng/l.

2 PRINCIPE

Aan waterstalen worden gekende hoeveelheden isotoopgemerkte fluorverbindingen toegevoegd. De waterstalen worden vervolgens geëxtraheerd met vaste fase extractie. De vaste fase wordt geëluëerd met methanol en het methanolextract wordt ingedampt. Het residu wordt opgenomen in een gekend volume mobiele fase en geanalyseerd met vloeistofchromatografie met massaspectrometrische detectie. Het gehalte van de verschillende PFAS wordt berekend met de interne standaard methode.

Opmerkingen:

- Afhankelijk van de aard van de monsters, de toestelgevoeligheid en de gewenste rapportagelimieten, kan de meting rechtstreeks gebeuren zonder voorafgaandelijke opwerking.
- Voor sommige PFAS kan geen isotoopdilutie toegepast worden omdat de identieke isotoopgemerkte verbinding niet beschikbaar is. Deze PFAS worden gekwantificeerd aan de hand van een zo goed mogelijk gelijkende isotoopgemerkte verbinding (zie ook tabel onder 6.2.2). Alternatief mag voor deze componenten de externe standaardmethode toegepast worden (met controle op de aanwezigheid van matrixeffecten), ofwel kwantificatie aan de hand van standaard additie, op voorwaarde dat aangetoond wordt dat daarmee betere resultaten bekomen worden. In geval de meetreeks steeds hetzelfde type monster omvat dan kan de kalibratiereeks aangemaakt worden in het monster of het monsterextract ("matrix matched calibration").

3 MATERIAAL

3.1 Gebruikelijk laboratoriumglaswerk

3.2 Injectiespuiten van 25 tot 100 µl voor het doperen van isotoopgemerkte fluorverbindingen of matrixaddities

3.3 Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0.1 mg

3.4 Bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0.01 g

3.5 Opstelling voor elutie van de SPE patronen

3.6 SPE patronen met een zwakke anionenwisselaar fase, bv OASIS WAX 6cc
cart, 150mg. Andere patronen kunnen ook gebruikt worden mits gevalideerd.

3.7 Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet

3.8 LC-MS systeem bestaande uit:

- een HPLC of UPLC vloeistofchromatograaf met injectie-automaat, vloeistofpomp, gethermostatiseerde kolom en ontgassingseenheid
Opn.: met het oog op de reductie van de systeemblanco wordt een isolator of delay kolom, die geplaatst wordt tussen LC-pomp en injector, sterk aanbevolen
- een tandem quadrupool massaspectrometer met electrospray ionisatiekamer
Opn.: Alternatief kan gebruik gemaakt worden van een ion trap of een hoge resolutie accurate massa (time-of-flight (TOF) of Fourier Transform) massaspectrometer

- een datastation voor de instelling van de instrumentele settings, de data-acquisitie en de data-analyse

3.9

LC-kolom:

- bv. voor UPLC: Waters Acquity UPLC BEH Shield RP18, 1.7 μ m, 2.1 x 100 mm kolom en bijhorende prekolom
- bv. voor HPLC: Altima C18, 5 μ m, 4 x 150 mm en bijhorende prekolom

Opmerking:

Van PFECHS komen 2 isomeren voor (cis- en trans-), die op een C18-kolom niet gescheiden zijn. Er zijn echter kolomfases waarop deze wel gescheiden zijn. In beide gevallen wordt onder PFECHS het totaal van de 2 isomeren verstaan.

4 REAGENTIA EN STANDAARDEN

4.1 Methanol, p.a.

4.2 Water, ultrapuur

4.3 Ammoniumacetaat, p.a.

4.4 NH₃-oplossing, p.a.: bv. 25 %

4.5 Ammoniak/methanol oplossing: 0,4 ml van een 25 % NH₃-oplossing in 99,6 ml methanol

4.6 Stock kalibratieoplossingen van natieve PFAS in methanol: monocomponent stockoplossingen, aangekocht of zelf aangemaakt vanuit de zuivere stoffen

4.7 Stock controlestandaard van natieve PFAS: dit is een onafhankelijke mengstandaard in methanol

4.8 Standaardoplossing van isotoop aangerijkte PFAS (inwendige standaarden): deze wordt als mengstandaardoplossing aangekocht of aangemaakt mbv individuele standaarden in een concentratie van bv. 400 µg/l. De volgende isotoopgemerkte PFAS worden minimaal gebruikt :

Perfluor-n-[1,2,3,4- ¹³ C1]-butaanzuur	¹³ C ₄ -PFBA
Perfluor-n-[¹³ C5]-pentaanzuur	¹³ C ₅ -PFPeA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-hexaanzuur	¹³ C ₂ -PFHxA
Perfluor -n-[1,2,3,4- ¹³ C4]-octaanzuur	¹³ C ₄ -PFOA
Perfluor-n-[1,2,3,4,5- ¹³ C5]-nonaanzuur	¹³ C ₅ -PFNA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-decaanzuur	¹³ C ₂ -PFDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-undecaanzuur	¹³ C ₂ -PUnDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-dodecaanzuur	¹³ C ₂ -PFDoDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-tetradecaanzuur	¹³ C ₂ -PFTeDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-hexadecaanzuur	¹³ C ₂ -PFHxDA
Perfluor-1-hexaan[¹⁸ O ₂]sulfonaat	¹⁸ O ₂ -PFHxS
Perfluor-1-[1,2,3,4- ¹³ C4]-octaansulfonaat	¹³ C ₄ -PFOS
Natrium 1H,1H,2H,2H-perfluor-1-[1,2- ¹³ C2]-octaansulfonaat	¹³ C ₂ -
6:2FTS Perfluor-1-[¹³ C8]-octaansulfonamide	¹³ C ₈ -
PFOSA	
N-methyl-d ₃ -perfluor-1-octaansulfonamide	D ₃ -MePFOSA
N-methyl-d ₃ -perfluor-1-octaansulfonamidoazijnzuur	D ₃ -MePFOSAA
Natrium bis(1H,1H,2H,2H-[1,2- ¹³ C2]perfluordecyl)fosfaat	¹³ C ₄ -8:2
diPAP	
2,3,3,3-Tetrafluor-2-(1,1,2,2,3,3,3-heptafluorpropoxy)- ¹³ C ₃ -propaanzuur	¹³ C ₃ -HFPO-DA
d ₄ -10:2 fluortelomeersulfonzuur	D ₄ -10:2 FTS

Opmerkingen :

- van sommige isotoop gemerkte verbindingen zijn ook varianten beschikbaar (bv. $^{13}\text{C}_3\text{-PFHxS}$, $^{13}\text{C}_8\text{-PFOS}$,...)
- $^{13}\text{C}_3\text{-HFPO-DA}$ is mogelijk niet stabiel in acetonitrile en oplossingen worden beter aangemaakt in methanol

4.9 Kalibratiestandaarden: maak uitgaande van de stock kalibratieoplossingen van natieve

PFAS en de standaardoplossing van isotoop aangerijkte PFAS een reeks verdunningen in 1/1 methanol/water met wisselende concentraties aan native PFAS, lopende van bv. 0.1 tot 100 µg/l, en constante concentraties aan isotoop aangerijkte PFAS van ca. 4 µg/l; deze oplossingen worden bij elke meetreeks opnieuw aangemaakt

- 4.10 QC standaarden: uitgaande van de stock controlestandaard worden ~~twee~~ QC standaarden in 1/1 methanol/water aangemaakt op één of meer concentratieniveaus
- 4.16 PFOS standaard voor de controle van de chromatografische scheiding: uitgaande van technische PFOS wordt een oplossing van bv. 50 µg/l in 1/1 methanol-water gemaakt

5 MONSTERBEWARING

Voor de monsterconservering en -bewaring wordt verwezen naar WAC/I/A/010.

Grondwaterstalen (gewoonlijk bemonsterd in het kader van bodemonderzoek) worden bij aankomst in het labo opgeschud en men laat de stalen gedurende minstens 4 uur rusten zodat de deeltjes kunnen uitzakken. Aansluitend worden de stalen voorzichtig gedecanteerd. Niet meer dan de helft van de bovenstaande waterlaag wordt gedecanteerd om zo weinig mogelijk deeltjes in bewerking te nemen. Waterstalen die geanalyseerd worden in het kader van menselijke consumptie worden niet gedecanteerd.

Opmerkingen:

- Contact met teflon of andere fluorhoudende polymeren dient vermeden te worden.
- De concentratie van >C10 PFAS in waterstalen neemt af bij toenemende bewaartijd, door sorptie aan recipientwand of neerslaan.
- Het is belangrijk om het volledige monster (voor grondwater: het volledig monster na decantatie) in bewerking te nemen, gevolgd door naspoelen van monsterfles met methanol; afhankelijk van de laboratoriumwerkwijze, toestelgevoeligheid en aard van het staal worden de watermonsters genomen in recipiënten van geschikt volume; de flessen worden volledig gevuld om de verhouding specifiek oppervlak/volume zo klein mogelijk te houden.
- In geval van analyse via directe injectie is het toevoegen van een organisch solvent aan het watermonster in de monsterfles noodzakelijk (bv. 50% methanol) ofwel wordt de monsterfles in het laboratorium geledigd en vervolgens gespoeld met voldoende methanol, waarna het water en de methanol samengevoegd worden vooraleer een deelmonster te nemen.
- In geval omwille van concentratieredenen of de organische belading van het water het monster niet in zijn volledigheid kan opgewerkt worden en verdunning van een deelmonster noodzakelijk blijkt, dan zal de monsterfles eerst geledigd worden en vervolgens gespoeld met voldoende methanol, waarna het water en de methanol samengevoegd worden vooraleer een deelmonster te nemen. Het laboratorium vermeldt in dit geval op het verslag dat de analyse uitgevoerd werd op een deelmonster.
- De staalnamerecipiënten dienen bij in gebruikname van een nieuwe batch gecontroleerd te worden op contaminatie met PFAS.

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 EXTRACTIE

- Weeg de monsterfles met stop en inhoud.

- Voeg een geschikte hoeveelheid van de standaardoplossing van isotoop gemerkte PFAS toe, zodat de theoretische concentratie van de IS in het meetextract gelijk is aan deze in de kalibratiestandaarden.
- Schud het geheel krachtig op.
- Voor de extractie wordt gebruik gemaakt van een SPE-patroon (3.6). De procedure omvat volgende stappen:
 - conditioneer het SPE-patroon met 4 ml ammoniak/MeOH oplossing;
 - conditioneer het SPE-patroon met 4 ml MeOH;
 - spoel het SPE-patroon met 4 ml ultrapuur water; let erop om het patroon niet droog te laten komen;
 - breng het volledige staal over het SPE-patroon;
 - spoel de monsterfles met 4 ml methanol en elueer hiermee het SPE-patroon; vang deze fractie op;
 - spoel de monsterfles met 4 ml methanol/ammoniak oplossing (4.6) en elueer hiermee het SPE-patroon; combineer deze fractie met de voorgaande;
 - damp indien nodig het extract in onder een N₂ stroom bij 40 – 65 °C tot 500 µl; laat het extract daarbij niet droggdampen; (voeg eventueel een keeper toe, bv. 50 µl DMF);
 - leng het extract desgewenst aan met ultrapuur water en/of methanol; de kalibratiestandaarden dienen in hetzelfde solventmengsel aangemaakt te worden als de meetextracten;
 - breng over in een meetvial;
 - bepaal het volume van het opgebrachte staal door herweging van de monsterfles met stop.

Van het extract wordt typisch 10 µl in de LC-MS geïnjecteerd.

De houdbaarheid van preparaten bedraagt, bij bewaring in de koelkast, 1 maand. Preparaten die in de koelkast hebben gestaan worden best gevortext vooraleer deze in de injectie-automaat te plaatsen.

6.2 METING

6.2.1 LC-CONDITIES

Een voorbeeld van een geschikte kolom voor de UPLC bepaling van perfluorverbindingen is Acquity UPLC BEH Shield RP18, 1.7µm, 2.1 x 100 mm.

Typische UPLC-instellingen zijn:

- mobiele fase:
 - A= Water + 5 % MeOH en 2 mM ammoniumacetaat
 - B= MeOH + 2 mM ammoniumacetaat
- debiet: 0.3 ml/min
- kolomtemperatuur: 40°C
- injectievolume: 10 µl
- gradiënt:

Ti jd	A%	B%
m in	%	%
0	70	30
0. 5	70	30

2	10	90
5		

2 7	1 0	90
2 8	1	99
3 0	7 0	30

Opmerkingen:

- De LC-analyse kan ook gebeuren met een HPLC configuratie, gebruikmakend van een C18 kolom en gradiëntelutie.
- ~~Voor de detectie van FOSAA, 6:2 PAP en 8:2 PAP is een alkalische mobiele fase nodig; een voorbeeld van UPLC-instellingen is hieronder gegeven:~~
 - ~~— mobiele fase:~~
 - ~~A = Water + 2 mM ammoniumacetaat + NH₃ (pH 10.5)~~
 - ~~B = ACN/MeOH 1/1 + 5 mM methylpiperidine~~
 - ~~C = Water/MeOH/ACN/isopropanol 25/25/25/25~~
 - ~~— debiet: 0.3 ml/min~~
 - ~~— kolomtemperatuur: 40°C~~
 - ~~— injectievolume: 10 µl~~
 - ~~— gradiënt:~~

T ij d	A	B	C
	(%)	{ % }	{ % }
0 : 0	90	1 0	0
0 : 5	90	1 0	0
5	55	4 5	0
1 0	55	4 5	0
2 0	0	9 5	5
2 3	0	9 5	5
2 5	90	1 0	0

6.2.2 MS-CONDITIES

Alle opnamen worden met Multiple Reaction Monitoring (MRM) uitgevoerd, met ionisatie via electrospray in negatieve modus (ES⁻).

Hieronder zijn bij wijze van voorbeeld, voor een Waters Xevo TQ-S, typische instellingen voor de MS-acquisitie gegeven:

Ion Mode :	ES-
Capillary Voltage :	1kV
Cone Voltage :	componentafhankelijk
Source Offset :	30V
Desolvation Temperature :	450°C
Source Temperature :	150°C
Desolvation :	800L/Hr
Cone :	150L/Hr
Nebuliser :	7Bar
Ion Energy1 :	0.9

Ion Energy2 :	1.1
Collision gas flow :	0.20 ml/min
Collision energy:	componentafhankelijk

De onderstaande ionentransities worden geregistreerd. Tegelijk zijn typische UPLC retentietijden aangegeven. Deze kunnen verschuiven afhankelijk van de gebruikte kolom. In de tabel is ook aangegeven welke isotoop gemerkte interne standaard gebruikt kan worden voor de kwantificatie van de natieve verbinding. Om zoveel mogelijk problemen van geringe terugvinding of spreiding van resultaten te vermijden (agv. sorptie aan recipiëntwand of injector en/of matrixonderdrukking/versterking), dient ernaar gestreefd te worden om een zo groot mogelijk aantal overeenkomstige inwendige standaarden te gebruiken.

Tabel 3: ionentransities van de PFAS

Compound	Parent (m/z)	Daughter (m/z)	(Q/q)	Conc (V)	Collision (V)	IS	Rt NH ₄ Ac (min)	Rt NH ₃ (min)
PFBA	213	169	Q	30	8	13C-PFBA	2.01	3.91
PFPeA	263	219 ~~69~~	Q q	30 ~~40~~	8 ~~8~~	13C-PFPeA	4.78	5.96
PFHxA	313	119 269	q Q	40 40	20 8	13C-PFHxA	8.72	7.24
PFHpA	363	169 319	q Q	40 40	20 11	13C-PFHxA	12.21	8.75
PFOA	413	169 369	q Q	40 40	17 11	13C-PFOA	14.94	11.81
PFNA	463	169 419	q Q	40 40	17 11	13C-PFNA	17.13	14.48
PFDA	513	219 469	q Q	40 40	20 11	13C-PFDA	18.95	15.69
PFUnDA	563	169 519	q Q	40 40	23 11	13C-PFUnDA	20.5	16.57
PFDoDA	613	319 56	q	40 40	20 11	13C-PFDoDA	21.84	17.27

		9	Q					
PFTTrDA	663	31 9 61 9	q Q	40 40	23 14	13C-PFDoDA	22.97	17. 87
PFTeDA	713	31 9 66 9	q Q	40 40	20 14	13C-PFTeDA	23.96	18. 4
PFHxDA	813	21 9 76 9	q Q	40 40	32 14	13C-PFHxDA	25.56	19. 24
PFODA	913	21 9 86 9	q Q	50 50	29 17	13C-PFHxDA	26.79	19. 89
PFBS	299	80 99	Q q	50 50	41 41	13C-PFHxS	5.76	6.8 4
PFPeS	349	80 99	Q q	50 50	32 30	18O2-PFHxS	9.53	8.0 9
PFHxS	399	80	Q	5 0	38	18O2-PFHxS	12.7	10. 4

		99	q	50	32			
PFHpS	449	80 99	Q q	50 50	41 36	13C-PFHxS	15.23	13. 8
PFOS	499	80 99	Q q	60 60	50 40	13C-PFOS	17.29	15. 26
PFNS	549	80 99	Q q	60 60	46 45	13C-PFOS	19.04	16. 2
PFDS	599	80 99	Q q	65 65	50 50	13C-PFOS	20.53	16. 94
PFDoS	699	80 99	Q q	65 65	49 47	13C-PFOS	22.95	18. 11
PFUnDS	649	80 99	Q q	65 65	49 47	13C-PFOS		
PFTrDS	749	80 99	Q q	65 65	49 47	13C-PFOS		
4:2 FTS	327	80.5 306.9	q Q	40 40	26 20	13C 6:2 FTS	8.37	7
6:2 FTS	427	80.7 406.9	q Q	40 40	28 30	13C 6:2 FTS	14.8	10. 83
8:2 FTS	527	80.7 506.9	q Q	40 40	32 34	13C 6:2 FTS	18.92	15. 44
10:2 FTS	627	80.7 606.9	q Q	40 40	37 30	~~13C 6:2~~ FTS D4- 10:2 FTS	21.87	17. 14
PFOSA	498	78 16 9	Q q	50 50	29 32	13C-PFOSA	19.99	14. 67
MePFOSA	512	16 9 21 9	Q q	40 40	25 22	D3- MePFOSA	22.64	15. 84
EtPFOSA	526	16 9 21 9	Q q	50 50	25 25	D3- MePFOSA	23.49	16. 69
~~PFOSAA~~ -	~~556~~ -	~~41~~ 9 ~~49~~ 8	q Q	~~86~~ ~~86~~	~~26~~ ~~28~~	~~D3-~~ ~~MePFOSAA~~	-- -	~~9.6~~ ~~1.~~
MePFOSAA	570	41 9 48 3	Q q	40 40	19 15	D3- MePFOSAA	19.7	16. 05
EtPFOSAA	584	41 9 52 6	Q q	40 40	20 20	D3- MePFOSAA	20.44	16. 45
~~6:2 PAP~~ -	~~443~~	~~79~~ ~~97~~	q	~~28~~ ~~28~~	~~46~~ ~~18~~	~~13C 8:2 PAP~~ -	--	~~6.5~~ -

			Q					
8:2 PAP	543	79 97	q Q	32 32	58 16	13C 8:2 PAP	--	8.6 2
6:2 diPAP	789	97 44 3	Q q	40 40	31 19	13C 8:2 diPAP	23.75	18. 19
6:2/8:2 diPAP	889	97 44 3	Q q	40 40	30 20	13C 8:2 diPAP	25.18	19
8:2 diPAP	989	97 54 3	Q q	50 50	30 25	13C 8:2 diPAP	26.3	19. 63
HFPO-DA	285	18 5 16 9	Q q	7 7	18 14	13C HFPO- DA	9.7	7.6 4

DONA	376. 97	84.95 250.96	q Q	8 8	26 12	13C HFPO- DA	12.54	9.31
PFECHS	461	99 38 1	q Q	40 40	24 24	13C-PFOA	14.84	13.4 7
PFBSA	298	78 64	q Q	50 50	29 32	13C-PFOSA		
MePFBSA	312	21 9 65	q Q	40 40	25 22	13C-PFOSA		
MePFBSAA	370	28 3 31 2	q Q	86 86	26 28	13C-PFOSA		
PFHxSA	398	78 11 9	q Q	50 50	29 32	13C-PFOSA		
13C-PFBA	217	172	IS	3 0	8		2.01	3.9
13C-PFPeA	268	223	IS	3 0	8		4.77	5.96
13C-PFHxA	315	270	IS	4 0	11		8.72	7.24
13C-PFOA	417	372	IS	4 0	8		14.95	11.8
13C-PFNA	468	423	IS	4 0	11		17.13	14.4 7
13C-PFDA	515	470	IS	5 0	11		18.95	15.6 9
13C-PFUnDA	565	520	IS	5 0	14		20.5	16.5 7
13C-PFDoDA	615	570	IS	5 0	14		21.84	17.2 7
13C-PFTeDA	715	670	IS	5 0	14		23.96	18.4
13C-PFHxDA	815	770	IS	5 0	14		25.56	19.2 5
18O2-PFHxS	403	84	IS	5 0	40		12.7	10.4 1
13C-PFOS	503	80	IS	6 0	40		17.28	15.2 6
13C 6:2 FTS	429	409	IS	1 0	24		14.8	10.8 2
13C-PFOSA	506	78	IS	5 0	40		19.99	14.6 8
D3-MePFOSA	515	169	IS	5 0	40		22.62	15.8 2
D3-MePFOSAA	573	419	IS	4 0	20		19.69	16.0 3
13C 8:2 PAP	545	97	IS	3 2	16			8.62
13C 8:2 diPAP	993	97	IS	2 5	20		23.75	18.1 9
13C HFPO-	287	119	IS	1	18		9.7	7.64

DA				0				
D4-10:2 FTS	633	612	IS	4 0	30		21.87	17.1 4

Q: transitie voor kwantificatie van de component

q: transitie ter bevestiging (kwalificatie) van de kwantificatietransitie

Opmerking:

Voor 8:2 diPAP is de quantifier transitie (Q) soms geïnterfereerd. Voor deze PFAS mag ook de qualifier transitie (q) gebruikt worden als quantifier.

6.2.3 IDENTIFICATIE EN INTEGRATIE

De per- en polyfluoralkylverbindingen en de interne standaarden worden geïdentificeerd op basis van de criteria voor retentietijden en ionenratio's zoals vermeld in WAC/VI/A/003.

De geïdentificeerde pieken worden geïntegreerd met behulp van de software van de apparatuur en manueel geverifieerd.

6.3 KALIBRATIE

De kalibratie kan op een aantal verschillende manieren gebeuren (voor de kwaliteitseisen waaraan de kalibratie moet voldoen wordt verwezen naar WAC/VI/A/003) :

- aan de hand van kalibratierechten. In dit geval worden aan het begin van de analysereeks minimaal 4 kalibratieoplossingen geanalyseerd met concentraties groter dan 0 en verspreid over het lineair gebied. De laagste concentratie mag niet hoger zijn dan 2 keer de ondergrens van het meetbereik. Op de X-as en de Y-as worden de verhoudingen uitgezet van resp. de concentraties en de piekoppervlakten van de natieve PFAS en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt dmv lineaire regressie de vergelijking van de kalibratierechte berekend. De afwijking van elk punt tot de rechte mag maximum 20% bedragen.
- aan de hand van kwadratische curven. Indien bij de lineariteitstest gebleken is dat er geen lineair maar een kwadratisch verband is tussen concentratie en respons, dan kunnen kwadratische curven gebruikt worden voor de kalibratie. Daartoe worden aan het begin van de analysereeks minimaal 5 kalibratie-oplossingen geanalyseerd met concentraties verspreid over het meetgebied. De laagste concentratie mag niet hoger zijn dan 2 keer de ondergrens van het meetbereik. Op de X-as en de Y-as worden de verhoudingen uitgezet van resp. de concentraties en de piekoppervlakten van de natieve PFAS en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt dmv kwadratische curve fitting de vergelijking van de curve berekend. De afwijking van elk punt tot de curve mag maximum 15% bedragen.

6.4 KWANTIFICATIE

Voor de monsterextracten worden de transities geregistreerd op identieke wijze als hierboven beschreven voor de standaardoplossingen. Uitgaande van de integratiewaarden voor het monster en de kalibratierechte/curve bepaald voor de kalibratiestandaard worden de gehalten van de verschillende verbindingen in het monster berekend.

Opmerkingen:

- Het eindextract bedraagt in de regel 1 ml, het monstervolume 50 ml voor drink- en oppervlaktewater en 25 ml voor afvalwater.
- Bij overschrijding van de bovenste grens van het werkgebied dient voor de bepaling van de betrokken fluorverbinding het extract verdund te worden met mobiele fase en opnieuw gemeten. **Het extract mag daarbij maximum 10 keer verdund worden. Indien dit niet volstaat mag verder verdund worden met toevoeging van verse interne standaard, op voorwaarde dat de terugvinding van de betrokken IS in het oorspronkelijk extract tussen 30% en 200% ligt; op het analyseverslag dient dit vermeld te worden.**
- Voor een aantal perfluorverbindingen (PFOA, PFOS, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS) bestaan de technische mengsels uit zowel lineaire als vertakte isomeren. De standaarden daarentegen zijn zuiver lineaire vormen. Kwantificeer, in afwachting van geschikte standaarden en duidelijke regelgeving/internationale afspraken, zowel de lineaire als de vertakte vormen gebruikmakend van de MRM-transitie en de RRF-waarde bekomen voor de lineaire vorm.
- Voor PFOA, PFOS, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS worden zowel de lineaire vormen als **de som het totaal** van de lineaire en vertakte vormen bepaald. **Deze som Het totaal van de lineaire en vertakte vormen** wordt gerapporteerd als resp. PFOAtotaal, PFOS totaal, PFOSAtotaal, MePFOSAtotaal, EtPFOSAtotaal en PFHxStotaal.

- Als er een som van PFAS gemaakt wordt dan dient het “lower bound” principe toegepast te worden.
- Indien de vertakte PFAS afzonderlijk gerapporteerd dienen te worden dan worden deze berekend als het verschil van het resultaat voor de lineaire en vertakte vormen en het resultaat van de lineaire vorm.

7 KWALITEITSCONTROLES

Voor de kwaliteitseisen ivm kalibratie, procedureblanco, controle op gevoeligheid, controlestaal, driftcontrole en onafhankelijke controlestandaard wordt verwezen naar WAC/VI/A/003.

7.1 CHROMATOGRAFISCHE SCHEIDING

De kolomkwaliteit wordt geverifieerd aan de hand van de scheiding van het kritische paar PFOS(vertakt)-PFOS(lineair) in het chromatogram van de oplossing met technische PFOS (zie 4.16). Het scheidingspercentage ($100 \times \text{hoogte vallei} / \text{hoogte hoogste piek}$) dient kleiner te zijn dan 30 %. Alternatief kan de kolomkwaliteit opgevolgd worden aan de hand van het schotelgetal.

7.2 TERUGVINDING VAN DE ISOTOOPGEMERKTE FLUORVERBINDINGEN

Voor elk monster wordt de terugvinding van de isotoopgemerkte interne standaarden bepaald, d.i. de experimenteel teruggevonden hoeveelheid van elk van de bij het begin van de analyse toegevoegde standaarden. Dit gebeurt door vergelijking van de oppervlakte van de isotoop aangerijkte verbinding bekomen voor het monster ($A_{is}(\text{monster})$) t.o.v. de oppervlakte bekomen voor een kalibratiestandaard ($A_{is}(\text{kalibratiestandaard})$) waarin ongeveer dezelfde concentratie aan natieve verbinding aanwezig is als gemeten in het monsterpreparaat (dit om rekening te houden met de onderdrukking van het signaal van de isotoopgemerkte verbinding door de coëluerende natieve verbinding). De terugvinding wordt gegeven door:

$$R\% = A_{is}(\text{monster}) * 100 / A_{is}(\text{kalibratiestandaard})$$

Het terugvindingsrendement is afhankelijk van sorptiefenomenen, signaalsuppressie/versterking door matrixbestanddelen en extractierendement. Voor een verantwoorde kwantificering dient het terugvindingsrendement van de ^{13}C -gemerkte fluorverbindingen minimaal 30 % en maximaal 200% te bedragen, met uitzondering van 13C-8:2diPAP en 13C-PFHxDA waar de ondergrens 10% bedraagt.

Opmerking:

Als voor een bepaalde interne standaard in praktijk systematisch te hoge of te lage terugvindingen bekomen worden, dan hoeft dit niet als afwijking op het analyserapport vermeld te worden op voorwaarde dat aan de hand van validatiegegevens aangetoond werd dat dit geen negatieve invloed heeft op het resultaat.

8 RAPPORTERING

Vermeld op het analyseverslag het gehalte van elke component in $\mu\text{g/l}$ of ng/l . Vermeld op het verslag ook eventueel vastgestelde afwijkingen.

9 REFERENCES

ISO 21675:2019: *Water quality — Determination of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in water — Method using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)*

Bepaling van het adsorbeerbaar organisch fluor (AOF) gehalte met combustion- ionchromatografie

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de bepaling van het adsorbeerbaar organisch fluor (AOF) gehalte met combustion - ionchromatografie (C-IC) in water, bijv. in grondwater, oppervlaktewater, drinkwater, afvalwater.

De methode zoals beschreven in ISO/WD 18127:2022 is van toepassing waarbij enkel de kolommethode werd weerhouden. De methode beschrijft de bepaling van adsorbeerbaar organisch fluor, chloor, broom en jood (AOF, AOCl, AOBr, AOI) met combustion- ionchromatografie. Enkel de methode voor de bepaling van AOF in water is voor deze WAC procedure van toepassing.

2 PRINCIPE

De analytische procedure bestaat uit de volgende stappen:

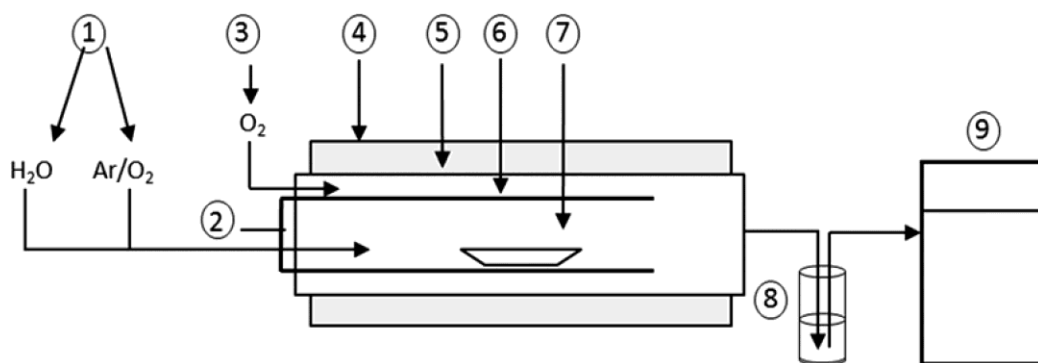
- Adsorptie van het organisch gebonden fluor in het watermonster op actieve kool.
- Verwijderen van de anorganische fluoriden door de actieve kool te wassen met een nitraatoplossing.
- Verbranding van de beladen actieve kool in een zuurstofstroom bij minimaal 950°C.
- Absorptie van het waterstoffluoride en aansluitende bepaling van de fluoride ionen door middel van ionchromatografie.

Om AOF te bepalen wordt de beladen actieve kool verbrand met toevoeging van water (hydropyrolyse). De resulterende verandering in het volume van de absorptieoplossing wordt meegenomen bij het berekenen van de concentratie (bijvoorbeeld door het bepalen van de terugwinning van een interne standaard).

De bepaling van fluoride gebeurt m.b.v. ionchromatografie door middel van geleidbaarheidsdetectie.

Het werkbereik van de methode is voor AOF $\geq 2 \mu\text{g/l}$, uitgedrukt als F.

In Figuur 1 is een schematische weergave gegeven van een combustion-IC met pyrohydrolyse.



- 1 pyrohydrolyse water, toevoer verbrandingsgas (binnenste buis)
- 2 monster introductie
- 3 verbrandingsgas (buitenste buis)
- 4 oven
- 5 buitenste pyrolyse buis

- 6 binnenste pyrolyse buis
- 7 verbrandingsschuitje
- 8 absorptie eenheid
- 9 ionchromatografie

Figuur 1 Schematische weergave van een combustion-IC met pyrohydrolyse

3 MONSTERBEHANDELING

Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.

4 REFERENTIES

- ISO/WD 18127:2022 Water quality — Determination of adsorbable organically bound fluorine, chlorine, bromine and iodine (AOF, AOCl, AOBr, AOI) — Method using combustion and subsequent ion chromatographic measurement (versie 2022-06-08).
- DIN 38409-59:2022-10 German standard methods for the examination of water, waste water and sludge - Parameters characterizing effects and substances (group H) - Part 59: Determination of adsorbable organically bound fluorine, chlorine, bromine and iodine (AOF, AOCl, AOBr, AOI) using combustion and subsequent ion chromatographic measurement (H 59)
- Validierungsdokument zur DIN 38409-59:2022-10 Bestimmung von adsorbierbarem organisch gebundenem Fluor, Chlor, Brom und Iod (AOF, AOCl, AOBr, AOI) mittels Verbrennung und nachfolgender ionenchromatographischer Messung (H 59), [Validierungsdokumente, Arbeitshilfen \(Excel-Dateien\) - Wasserchemische Gesellschaft \(wasserchemische-gesellschaft.de\)](#)

Bepaling van minerale olie in water met gaschromatografie

INHOUD

1	TOEPASSINGSGEBIED	3
2	PRINCIPE	3
3	OPMERKINGEN	3
4	APPARATUUR EN MATERIAAL	3
4.1	<i>Apparatuur</i>	3
4.2	<i>Materiaal</i>	4
5	REAGENTIA EN OPLOSSINGEN	4
5.1	<i>Reagentia</i>	4
5.2	<i>Oplossingen</i>	5
6	PROCEDURE	5
6.1	<i>Extractie</i>	5
6.2	<i>Zuivering met florisil</i>	6
6.2.1	<i>Testen van de florisilkwaliteit</i>	6
6.2.2	<i>Zuivering van extracten en concentrering</i>	6
6.3	<i>GC-FID analyse</i>	7
6.3.1	<i>Instellingen van de gaschromatograaf</i>	7
6.3.2	<i>Meting</i>	7
6.3.3	<i>Kalibratie</i>	8
6.3.4	<i>Kwalitatieve beschrijving van de verontreiniging</i>	8
7	BEREKENING	9
7.1	<i>Responsfactor</i>	9
7.2	<i>Gehalte aan minerale olie</i>	10
8	KWALITEITSCONTROLE	10
8.1	<i>Lineariteit</i>	10
8.2	<i>Gaschromatografische karakteristieken</i>	10
8.3	<i>Controle op de gevoeligheid</i>	10
8.4	<i>Procedureblanco</i>	10
8.5	<i>Controlemonster</i>	11
8.6	<i>Terugvinding van de interne standaard</i>	11
9	REFERENTIES	11
	BIJLAGE A	12

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze methode **vervangt procedure WAC/IV/B/025 van juni 2022 en** beschrijft de kwantitatieve bepaling van het minerale olie gehalte in oppervlaktewater, grondwater, drinkwater en afvalwater met behulp van gaschromatografie. Onder minerale olie wordt het geheel aan verbindingen bedoeld die met hexaan extraheerbaar zijn uit water, die niet adsorberen aan florisil en die gaschromatografeerbaar zijn met retentietijden gelegen tussen de retentietijden van n-decaan en n-tetracontaan (op een apolaire kolom).

Opmerking :

Olieverontreinigingen waar een vluchtige fractie aanwezig is worden met de onderstaande methode in onvoldoende mate teruggevonden. Zo ook worden aromatische en zwak polaire verbindingen, al dan niet bestanddeel van olieproducten, niet kwantitatief teruggevonden.

2 PRINCIPE

Waterstalen worden geëxtraheerd met hexaan of een ander alkaan. De extracten worden gezuiverd met florisil om de polaire verbindingen te verwijderen. De gezuiverde extracten worden indien nodig ingedampt en m.b.v. een niet-discriminerend injectiesysteem geïnjecteerd in een gaschromatograaf uitgerust met een apolaire kolom en een vlamionisatiedetector. De totale oppervlakte van het chromatogram gelegen tussen de retentietijden van n-decaan en n-tetracontaan wordt geïntegreerd en vergeleken met de oppervlakte bekomen voor een kalibratiestandaard van diesel en motorolie. Er wordt gebruik gemaakt van de interne standaard methode, waarbij een gekende hoeveelheid n-tetracontaan na de extractie toegevoegd wordt.

3 OPMERKINGEN

- Voor de monsterconservering en-bewaring wordt verwezen naar WAC/I/A/010.
- Van watermonsters met een zichtbare drijfslag wordt geen kwantitatieve bepaling uitgevoerd. De identiteit van de drijfslag wordt wel onderzocht. In het rapport wordt de aanwezigheid van een drijfslag gemeld samen met de identiteit.
- Grondwatermonsters (bemonsterd in het kader van bodemonderzoek) worden bij aankomst in het labo opgeschud en men laat de stalen gedurende minstens 4 uur rusten zodat de deeltjes kunnen uitzakken. Aansluitend worden de stalen voorzichtig gedecanteerd. Niet meer dan de helft van de bovenstaande waterlaag wordt gedecanteerd om zo weinig mogelijk deeltjes in bewerking te nemen.

4 APPARATUUR EN MATERIAAL

4.1 APPARATUUR

4.1.1. Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0.1 mg

4.1.2. Bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0.01 g

- 4.1.3. Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- 4.1.4. Gaschromatograaf voor capillaire kolommen, voorzien van een niet-discriminerend injectiesysteem (bijvoorbeeld on-column injector of koude PTV-injector), een vlamionisatiedetector en een datastation voorzien van de nodige sturings- en dataverwerkings-programmatuur. De GC is eventueel uitgerust met een on-column groot-volume injector

4.2 MATERIAAL

- 4.2.1. Gebruikelijk laboratoriumglaswerk, volgens de gebruikelijke procedure gereinigd en gespoeld met aceton en vervolgens hexaan of petroleumether
- 4.2.2. Gekalibreerde puntbuisjes
- 4.2.3. Erlemeyers van 100 en 250 ml
- 4.2.4. Scheitrechters van 1000 tot 2000 ml
- 4.2.5. Capillaire kolom met apolaire fase (polydimethylsiloxaan of poly-95%-dimethyl-5%-difenylsiloxaan), van 5 tot 25 m lengte, met een diameter van 0.10 tot 0.32 mm en een filmdikte van 0.1 tot 0.25 μm
- 4.2.6. Injectiespuit van 10 μl

5 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

5.1 REAGENTIA

- 5.1.1. n-Hexaan: residu-analyse kwaliteit.

Opmerking:

I.p.v. n-hexaan kan ook petroleumether (40°-60°C), isohehexaan, cyclohexaan of n-heptaan gebruikt worden.

- 5.1.2. Aceton: residu-analyse kwaliteit.
- 5.1.3. Natriumsulfaat, Na_2SO_4 : granulair en watervrij; een geopende verpakking wordt uitgegoten in een schaal en bewaard bij 130°C in een droogoven.
- 5.1.4. Zoutzuur, HCl : geconcentreerd.
- 5.1.5. Magnesiumsulfaat heptahydraat, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.
- 5.1.6. RIVM-olie: kalibratiemengsel van minerale oliën, bestaande uit een dieselolie en een motorolie, zoals verkrijgbaar in de handel.
- 5.1.7. Kalibratiemengsel van even n-alkanen, lopende van C_{10} tot C_{40} .
- 5.1.8. n- C_{10} : n-decaan, $\text{C}_{10}\text{H}_{22}$: tenminste 98% zuiver.
- 5.1.9. n- C_{40} : n-tetracontaan, $\text{C}_{40}\text{H}_{82}$: tenminste 98% zuiver.
- 5.1.10. 4-Cholesten-3-one (3-oxo-cholesteen), $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}$: tenminste 98% zuiver.

5.1.11. Tetraline (1,2,3,4-tetrahydronaftaleen), $C_{10}H_{12}$: tenminste 98% zuiver.

5.1.12. Florisil (magnesium silicaat): korrelgrootte 0.15 mm tot 0.25 mm (60-100 mesh), gedurende 16 u verhit bij 140°C en vervolgens bewaard in een exsiccator.

5.2 OPLOSSINGEN

- 5.2.1. Kalibratie-werkoplossingen: deze bevatten RIVM-olie (5.1.6) in hexaan in concentraties van bijvoorbeeld 50 tot 10000 µg/ml; elke oplossing bevat 100 µg/ml n-C40 (5.1.9) als interne standaard.
- 5.2.2. Werkoplossing voor de controle van de kalibratierechte: deze bevat bijvoorbeeld 5000 µg/ml RIVM-olie (5.1.6) in hexaan en 100 µg/ml n-C40 (5.1.9) als interne standaard.
- 5.2.3. Werkoplossing van even n-alkanen (5.1.7), elk in een concentratie van ongeveer 10 µg/ml, voor het vastleggen van de retentietijden.
- 5.1.4. Interne standaardoplossing van 1000 µg/ml n-decaan en 1000 µg/ml n-tetracontaan in hexaan; de oplossing wordt bereid uit de zuivere producten; de oplossing wordt aan de extracten toegevoegd na de extractie en dient ter controle van het goede verloop van de analyse en voor de markering van het begin- en eindpunt van de integratie; de oplossing wordt bewaard bij kamertemperatuur en wordt vóór gebruik verwarmd om eventueel uitgekristalliseerd n-C40 terug op te lossen.
- 5.1.5. Doperingsoplossing van 40000 µg/ml RIVM olie in aceton, voor de bepaling van de terugvinding (opm.: bij hogere concentraties bestaat kans tot ontmenging in de koelkast).
- 5.1.6. Testoplossing voor de bepaling van de kwaliteit van florisil, bevattende 50 µg/ml tetraline, 50 µg/ml decaan en 200 µg/ml 4-cholesten-3-one in hexaan.

Opmerking:

In geval van groot-volume injectie dienen de concentraties van de bovenstaande oplossingen aangepast te worden i.f.v. het injectievolume.

6 PROCEDURE

6.1 EXTRACTIE

- Weeg de monsterfles tot op 0.1 g nauwkeurig.
- Breng de volledige inhoud van de monsterfles (typisch 500-1000 ml) over in een geschikte scheitrechter (4.2.4.). In geval van grondwater (decantatie, cfr supra) wordt maximum de helft van de bovenstaande fase overgebracht in de scheitrechter.
- Voeg 80 g magnesiumsulfaat heptahydraat (5.1.5.) toe tot per 1000 ml water en breng, voor zover dit nog niet gebeurd is, op pH 2 met zoutzuur (5.1.4.).
- Spoel de monsterfles na met ongeveer 20 ml extractievloeistof (hexaan, isohexaan, cyclohexaan, petroleumether of heptaan) en breng de spoelvloeistof over naar de scheitrechter.
- Schud het geheel krachtig gedurende ongeveer 30 min.
- Laat de fasen scheiden; in geval van emulsievorming kan de scheiding bevorderd worden door centrifugatie, invriezen, uitzouten of ultrasoonbehandeling.
- Laat de organische fase af over een glasvezelfilter met Na₂SO₄ (5.1.3.) en vang op in een erlenmeyer (4.2.3.).
- Herneem de spoel- en extractiestap nog minstens 1 maal met 20 ml hexaan.
- Spoel de scheitrechter en filter na 5 ml hexaan en voeg toe aan het extract; voeg een

hoeveelheid van de interne standaardoplossing (5.1.4.) toe zodat de concentratie van n-C40 in

het eindextract ongeveer 100 µg/ml zal bedragen (in geval van groot-volume injectie dient de hoeveelheid aangepast te worden i.f.v. het injectievolume).

- Leng de verzamelde hexaanfracties aan of damp in (onder stikstofstroom of met Rotavapor) tot een volume van 10-50 ml; behandel verder volgens 6.2.2.
- Weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud

6.2 ZUIVERING MET FLORISIL

6.2.1 TESTEN VAN DE FLORISILKwaliteit

Van de geactiveerde florisil (5.1.12) wordt minstens maandelijks het zuiveringsrendement gecontroleerd. Ook elke nieuwe partij florisil wordt gecontroleerd alvorens in gebruik te nemen.

Aan 5 ml van de testoplossing (5.1.6.) van decaan, tetraline en 4-cholesten-3-one wordt 1.5 g florisil (5.1.12.) toegevoegd. Het geheel wordt gedurende 10 min. geschud en de oplossing wordt gaschromatografisch onderzocht.

De terugvindingen van de verschillende verbindingen worden bepaald door vergelijking van de oppervlakten van de chromatogrampieken bekomen voor de behandelde en niet behandelde testoplossing:

$$T = (A_b / A_{nb}) * 100$$

met:

T	de terugvinding in %
A _b	de piekoppervlakte van de component voor de behandelde oplossing
A _{nb}	de piekoppervlakte van de component voor de niet-behandelde oplossing

De terugvinding van de verbindingen moet aan de volgende criteria voldoen:

tetraline	>30% >50%
4-cholesten-3-one	< 3%
decaan	> 90%

Opmerking:

Indien nodig kan de terugvinding van tetraline verhoogd worden door toevoeging van water aan de florisil (bv. 3-10%).

6.2.2 ZUIVERING VAN EXTRACTEN EN CONCENTRERING

- Voeg aan het extract 2 g florisil per inname van 500 ml water toe.

Opmerking:

eventueel kan de zuivering op een gekend (bvb. gravimetrisch bepaald) deel van het extract uitgevoerd worden; in dat geval wordt de hoeveelheid florisil berekend a.h.v. het met het deextract overeenkomend staalvolume.

- Schud het geheel gedurende 10 min.
- Indien geen indampstap wordt voorzien, wordt een deel van het gezuiverde extract, na bezinken van de florisil en eventueel filtreren, overgebracht naar een GC-injectieflesje.

- Wordt een indampstap voorzien dan wordt de florisil afgescheiden door centrifugatie of filtratie en het gezuiverde extract wordt ingedampt (onder stikstofstroom of met Rotavapor) tot een gekend volume.

Opmerkingen:

- Er wordt één florisilzuiveringsstap uitgevoerd, ongeacht de verontreinigingsgraad van het extract.
- Indampen van het extract kan noodzakelijk zijn om de gewenste aantoonbaarheidsgrens te behalen; deze indampstap leidt tot verliezen van de eventueel aanwezige vluchtige fractie; indampen kan eventueel vermeden worden door toepassing van groot-volume injectie met een geschikt type injector.

6.3 GC-FID ANALYSE

6.3.1 INSTELLINGEN VAN DE GASCHROMATOOGRAAF

Stel de gaschromatograaf zodanig in dat:

- voor de werkoplossing van n-alkanen (5.2.3.) alle alkanen tot op de basislijn gescheiden zijn;
- voor een kalibratiestandaard van RIVM olie (5.2.2.) de verhouding van de totale oppervlakte van C20 tot C40 t.o.v. van deze van C10 tot C20 gelegen is tussen 1.25 en 1.40 (het midden van de C20 piek wordt genomen als integratiegrens).

Typische GC-instellingen zijn hieronder weergegeven:

kolomspecificaties	DB-5ms, 10m x 0.25mm x 0.25 µm met apolaire voorkolom, 1.5m x 0.53mm
draaggas en flow	helium, 1.0 ml/min
injectiemodus	on-column of ander indien aan bovenvermelde criteria voldaan
wordt injectievolume	1 µl
GC-progr. (hexaan)	60°C, 5 min, 25°C/min naar 320°C, 6 min (totale duur 22 min)
FID temperatuur	325°C

6.3.2 METING

- Registreer een chromatogram van de “kolombleeding” door injectie van extractiesolvent (5.1.1.), al dan niet ingedampt conform de gevolgde werkwijze voor de monsters.
- Ga de herhaalbaarheid van de injectie na door de standaardoplossing voor de controle van de kalibratierechte (5.2.2.) driemaal te injecteren. Corrigeer deze chromatogrammen voor de “kolombleeding” en bereken de herhaalbaarheid van de gecorrigeerde piekoppervlakten. De relatieve standaardafwijking mag niet meer dan 5 % bedragen.
- Injecteer een procedureblanco (een blanco watermonster dat de volledige opwerkprocedure ondergaat conform de werkwijze voor stalen), de kalibratiestandaard(en) en de monsters. Registreer de chromatogrammen en trek hiervan de “kolombleeding” af.
- Bij de integratie van de chromatogrammen wordt het totale piekoppervlak vanaf n-decaan tot n-tetracontaan geïntegreerd waarbij de genoemde alkanen niet worden meegenomen. De integratie wordt gestart onmiddellijk na de piek van n-decaan (of bij de retentietijd hiermee overeenkomend) op het signaalniveau voor of direct na de oplosmiddelenpiek. De integratie wordt beëindigd onmiddellijk voor de piek van n-tetracontaan (of bij de retentietijd hiermee overeenkomend) op hetzelfde signaalniveau. Chromatogrammen voor de RIVM olie en een reëel monster zijn opgenomen in bijlage.

- Bijkomend wordt n-tetracontaan afzonderlijk geïntegreerd. In geval een verontreiniging in de staaextracten aanwezig is die verder doorloopt na C40 gebeurt de integratie tot aan de voet van de chromatogrampiek (en dus niet tot aan de doorgetrokken basislijn).

Opmerkingen:

- Chromatogrampieken tussen het oplosmiddel en n-decaan geven aan dat het om een verontreiniging met vluchtige koolwaterstoffen gaat; er dient hiervan melding gemaakt te worden op het analyseverslag, zodat de aanvrager eventueel kan overwegen om bijkomende analyses te laten uitvoeren met bvb. headspace of purge and trap preconcentrering.
- Een verhoogde basislijn bij tetracontaan wijst op een verontreiniging met zware olie; er dient hiervan melding gemaakt te worden op het analyseverslag.
- Indien de piek van de interne standaard (n-C40) geïnterfereerd is, mag externe kwantificering toegepast worden; er dient hiervan melding gemaakt te worden op het analyseverslag.
- Wordt een signaal waargenomen groter dan de hoogste concentratie van de kalibratiereeks of van het lineaire bereik (zie hieronder) dan dient de oplossing verdund te worden.

6.3.3 KALIBRATIE

Initiële kalibratie (maandelijks uit te voeren)

- Injecteer de kalibratie-werkoplossingen (5.2.1.) in oplopende concentratie. Deze oplossingen bevatten een variabele concentratie RIVM-olie (van 50 tot 10000 µg/ml of andere afhankelijk van het lineair bereik en het toepassingsgebied) en een constante concentratie (bvb. 100 µg/ml) aan interne standaard n-C40. In geval van groot-volume injectie worden de concentraties aangepast i.f.v. het geïnjecteerde volume.
- Integreer de chromatogrammen na correctie voor de "kolombleeding". De oppervlakteverhouding (fractie C10-C40 t.o.v. de interne standaard n-C40) wordt uitgezet i.f.v. de concentratieverhouding van de RIVM-olie en n-C40. Voor concentraties binnen het lineair gebied (zie 8.1) wordt de gemiddelde relatieve responsfactor (RRF) berekend (zie 7.1). Alternatief kan de kalibratie uitgevoerd worden aan de hand van de helling van de door de oorsprong geforceerde kalibratierechte, op voorwaarde dat de oorsprong binnen de 95% betrouwbaarheidskrommen ligt.

Dagelijkse kalibratie

- Ga minstens om de 15 injecties de geldigheid van de kalibratierechte na door een controle-werkoplossing van RIVM-olie (5.2.2.) te injecteren. Bereken op basis van de waargenomen oppervlakten van de fractie C10-C40 en van de interne standaard n-C40 het gehalte van de werkoplossing, gebruik makend van de gemiddelde RRF of van de helling van de kalibratierechte die bepaald werden bij de initiële kalibratie.
- Indien de afwijking tussen de berekende waarde en de werkelijke waarde kleiner is dan 10% dan wordt de kalibratierechte als geldig beschouwd, in het andere geval dient de kalibratierechte opnieuw bepaald te worden zoals hierboven beschreven.

6.3.4 KWALITATIEVE BESCHRIJVING VAN DE VERONTREINIGING

Op vraag van de klant kan een kwalitatieve beschrijving van de verontreiniging toegevoegd worden aan het verslag. De beschrijving is gebaseerd op de koolstofverdeling die uit het chromatogram afgeleid kan worden. Het bekomen chromatogram wordt opgesplitst in fracties: men integreert van C10 tot C12, van C12 tot C20, van C20 tot C30 en van C30 tot C40, waarbij steeds geïntegreerd wordt van onmiddellijk na de piek tot onmiddellijk na de piek, met uitzondering van C40 waar de integratie stopt onmiddellijk voor de piek.

Op basis van de bekomen oppervlakten en de totale oppervlakte kunnen aan de verschillende fracties de procentuele bijdragen tot het totale gehalte berekend worden. Voor de interpretatie van de waargenomen profielen kan men de onderstaande tabel als leidraad hanteren.

C6-C14	benzine
C10-C16	kerosen, mineral spirits
C10-C28	diesel en stookolie
C10-C36	zware stookolie
C20-C36	motorolie

7 BEREKENING

7.1 RESPONSFACTOR

De interne standaardmethode is gebaseerd op de bepaling van een relatieve responsfactor (RRF). Zoals hierboven vermeld wordt in de praktijk gebruik gemaakt van een kalibratiereeks. Voor elke kalibratie-werkoplossing wordt de RRF berekend:

$$RRF = \frac{A_{rvm}}{C_{is} \times C_{rvm}} \times A_{is}$$

met

RRF = relatieve responsfactor

Arvm = piekoppervlakte van de C10-C40 fractie in de kalibratiestandaard

Crvm = concentratie RVM-olie in de kalibratiewerkoplossing (µg/ml)

Ais = piekoppervlakte van de interne standaard n-C40

Cis = concentratie van de interne standaard in de kalibratiewerkoplossing (µg/ml)

Binnen het lineair gebied (zie 8.1) wordt de gemiddeld RRF berekend:

$$\overline{RRF} = \frac{RRF_i}{n}$$

met

<RRF> = de gemiddelde relatieve responsfactor

RRFi = de relatieve responsfactor bekomen voor kalibratiewerkoplossing i

n = het aantal kalibratiewerkoplossingen

Opmerking:

Alternatief kan de gemiddelde RRF gelijkgesteld worden aan de helling van de door de oorsprong geforceerde kalibratierechte, op voorwaarde dat de oorsprong binnen de 95% betrouwbaarheidskrommen ligt.

7.2 GEHALTE AAN MINERALE OLIE

Het gehalte aan minerale olie wordt gegeven door de onderstaande formule:

$$C = \frac{A \times G_{is}}{A_{is} \times \langle RRF \rangle \times V}$$

met

C	=	het gehalte aan minerale olie in µg/l
A	=	de piekoppervlakte van de fractie C10-C40 in het staal
A _{is}	=	de piekoppervlakte van de interne standaard n-C40 in het staal
G _{is}	=	de hoeveelheid interne standaard toegevoegd aan het staal (µg)
V	=	volume geëxtraheerd monster (l)
<RRF>	=	de gemiddelde relatieve responsfactor

8 KWALITEITSCONTROLE

8.1 LINEARITEIT

De werkwijze voor de bepaling van lineariteit is beschreven in WAC/VI/A/001.

Stelt men bij de monsteranalyse een overschrijding van de bovenste lineaire grens vast, d.i. de hoogst geregistreerde oppervlakte in het lineaire gebied, dan moet de analyse hernomen worden startend van een verdunde hoeveelheid monsterextract, voor zover het signaal van de interne standaard nog voldoende intens is, of startend van een geringere hoeveelheid monster.

8.2 GASCHROMATOGRAFISCHE KARAKTERISTIEKEN

Zoals vermeld onder 6.3.1 dient regelmatig een controle op scheiding van alkanen en op het niet-discriminerend gedrag van de injector te gebeuren.

8.3 CONTROLE OP DE GEVOELIGHEID

Minstens bij het begin en bij het einde van elke meetreeks dient de toestelgevoeligheid gecontroleerd te worden. Het toestel moet voldoende gevoelig zijn en blijven om de rapportagegrens te kunnen halen.

8.4 PROCEDUREBLANCO

Bij elke reeks staalopwerkingen wordt een procedureblanco meegenomen. Indien meerdere reeksen per dag opgewerkt worden dan volstaat 1 procedureblanco. De procedureblanco doorloopt de volledige staalopwerking.

Opmerkingen :

- een staalopwerkingsreeks duurt maximum 24 uur, waarmee bedoeld wordt dat met de staalopwerking van alle stalen een aanvang genomen wordt binnen de 24 uur. Onder staalopwerking wordt verstaan : extractie, verzeping etc. Voorbereidende stappen (bv. mengen

met droogmiddel, conservering, deelmonsternamen etc.) worden hiervoor niet tot de staalopwerking gerekend.

Het geregistreerde chromatogram dient vrij te zijn van interfererende pieken die groter zijn dan 10% van de pieken geregistreerd voor het de monsters in de analysereeks. Voor meetwaarden die kleiner zijn dan 5 maal de gevraagde rapporteergrens mogen de interfererende pieken niet groter zijn dan de helft van de gevraagde rapporteergrens.

8.5 ONAFHANKELIJKE CONTROLESTANDAARD

De juistheid van de kalibratieoplossingen dient regelmatig (minstens om de 3 meetreeksen) gecontroleerd te worden. Hiervoor wordt na de kalibratie een controlestandaard gemeten die onafhankelijk is van de kalibratieoplossingen. Als controlestandaard kan een gecertificeerde standaard van olie of apolaire koolwaterstoffen gebruikt worden.

8.6 CONTROLEMONSTER

Bij elke reeks staalopwerkingen wordt 1 controlestaal meegenomen. Indien meerdere reeksen per dag opgewerkt worden dan volstaat 1 controlestaal per dag.

Als controlestaal wordt een gedopeerd waterstaal gebruikt. De matrix die gedopeerd wordt kan een reëel staal zijn, of blancowater (bij analyse van grondwater en drinkwater). Ook mogen synthetische matrices gebruikt worden (cfr. ASTM D5905-98 voor de aanmaak van synthetisch afvalwater en NVN-6419 voor synthetisch grondwater en oppervlaktewater). Alle representatieve matrices dienen in de loop der tijd aan bod te komen.

De terugvinding van de minerale olie dient tussen 70% en 130% te liggen.

De gemeten gehalten worden opgetekend in een controlekaart. De opgetekende waarden moeten voldoen aan de voor controlekaarten geldende criteria.

8.7 TERUGVINDING VAN DE INTERNE STANDAARD

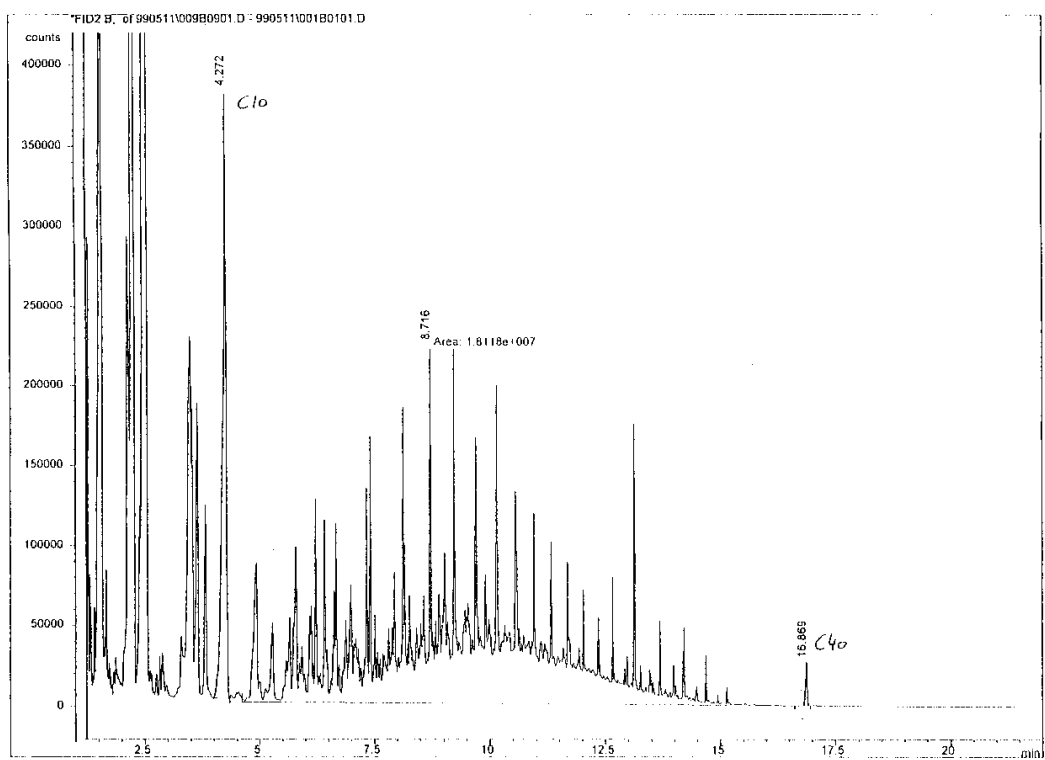
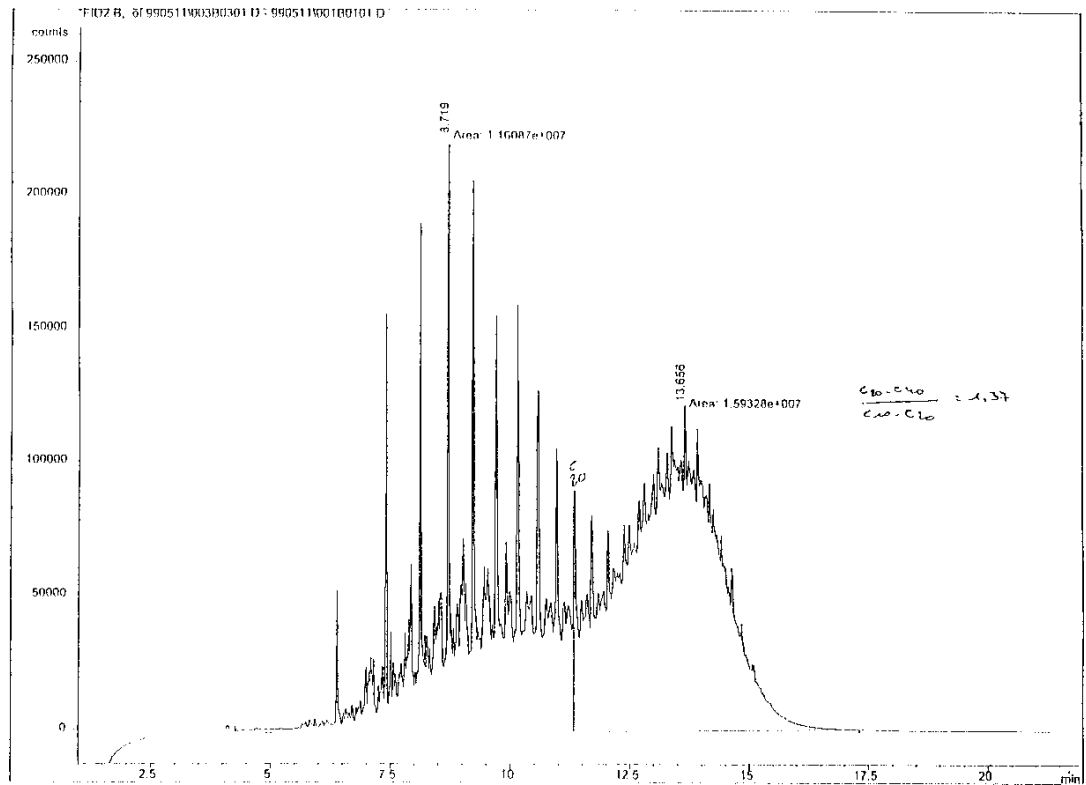
De terugvinding van de interne standaard, berekend tov het gemiddelde van de kalibratiestandaarden, dient gelegen te zijn tussen 50% en 150%.

9 REFERENTIES

- EN 872 (1996); Water Quality - Bestimmung suspendierter Feststoffe - Verfahren durch Abtrennung mittels Glasfaserfilter
- ISO/DIS 9377-2 (2000): Water Quality: Determination of hydrocarbon oil index – part 2: Method using solvent extraction and gas chromatography
- ISO 8466-1 (1990); Water Quality – Calibration and Evaluation of Analytical Methods and Estimation of Performance Characteristics, Part 1: Statistical Evaluation of the Linear Calibration Function; 1st Ed.
- NEN 5733 (1997); Bodem: Bepaling van het gehalte aan minerale olie in grond en waterbodem met gaschromatografie
- NVN 6678 (1997); Water: Bepaling van het gehalte aan minerale olie met gaschromatografie

BIJLAGE A

GC-FID chromatogrammen voor RIVM olie (A) en benzine- en diesilverontreiniging (B)



Bepaling van Legionella in drinkwater en in koeltorenwater

INHOUD

1	TOEPASSINGSGEBIED	4
2	PRINCIPE	4
3	OPMERKINGEN	5
4	APPARATUUR EN MATERIAAL	6
4.	Apparatuur	6
1		
4.	Materiaal	6
2		
5	REAGENTIA EN BEREIDINGEN	6
5.1	Reagentia	6
6	PROCEDURE	7
6.1	Monsterhomogenisatie	7
6.2	Behandeling van watermonsters	7
6.3	Concentratie van watermonsters	8
6.4	Behandelingen	9
6.5	Kweek	10
6.6	bevestiging van presumptieve legionella kolonies op cultuurmedia bcye(+cys) en bcye-cys agar	13
6.7	bijkomende bevestiging via serotypering van presumptieve Legionella kolonies met een agglutinatatie of immunochromatografische test	14
6.8	Identificatie van Legionella door middel van MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry)	14
7	REAL-TIME PCR-DETECTIE EN KWANTIFICATIE VAN LEGIONELLA PNEUMOPHILA IN DRINKWATER VOOR SCREENING in kader van een beheersplan	15
7.1	Principe	15
7.2	Performantiekarakteristieken kwalitatieve real-time PCR en kwantitatieve real-time PCR	1
(qP CR)		5
7.3	Screening	16
8	SPECIFIEKE RICHTLIJNEN BIJ EEN KLINISCH BEVESTIGDE LEGIONELLOSE OF EEN UITBRAAK	16
8.1	Aflezen van de platen bij een klinisch bevestigde Legionellose of een uitbraak	16
8.2	Bevestiging van presumptieve Legionella kolonies	17
8.3	Screening met PCR	17
9	RAPPORTERING	17
9.1	Formules	17
9.2	Afspraken met betrekking tot rapportering	18

9.3	<i>Voorbeelden</i>	19
9.4	<i>Minimale inhoud rapport</i>	20
10	REFERENTIES	20

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft methodes voor het aantonen en kwantificeren van *Legionella* in drinkwater en in koeltorenwater conform ISO 11731:2017. Sinds de versie van oktober 2019 wordt de scenariokeuze niet meer aan het laboratorium overgelaten. In de huidige versie is bijkomend de verplichte uitvoering van de rechtstreekse uitplating voor drinkwater opgenomen en werd de rapporteringswijze gewijzigd.

Deze procedure is van toepassing bij het bacteriologisch onderzoek van water, en is hier uitgewerkt voor drinkwater en koeltorenwater.

De door het Departement Omgeving toegekende erkenning voor *Legionella* analyses omvat twee deeldomeinen, nl. drinkwater (dw) en afvalwater (aw). Koeltorenwater wordt - onafhankelijk van het type water waarmee de koeltoren wordt gevoed - gecatalogeerd onder afvalwater.

Voor de analyse van drinkwatermonsters is watermatrix A van ISO 11731:2017 van toepassing.

Voor de in het Legionella Besluit onderverdeelde koeltorenwaters "Onderafdeling III Koeltorens die niet met oppervlaktewater werken", "Onderafdeling I Koeltorens met natuurlijke trek die gebruikmaken van oppervlaktewater", en "Onderafdeling II Koeltorens met geforceerde trek die gebruikmaken van oppervlaktewater" zijn watermatrix B en watermatrix C van ISO 11731:2017 van toepassing.

Aanvullend bij de bepaling van het Legionellagehalte in drinkwater en koeltorenwater dient een serologische typering te worden uitgevoerd. Dit betekent dat bij elk analyseresultaat een onderscheid dient gemaakt te worden tussen *Legionella pneumophila* serotype 1, *Legionella pneumophila* serotype 2-14 (2-15¹) en *Legionella species* (verschillend van *pneumophila* of de zgn. non-*pneumophila*)² aan de hand van een agglutinatie of immunochromatografische test.

2 PRINCIPE

Bacteriën uit de familie *Legionellaceae* zijn staafvormige (2-20 µm lang en 0,3 - 0,9 µm dik), Gramnegatieve beweeglijke bacteriën die sporen noch cysten vormen. Het organisme groeit enkel in een zuurstofhoudend milieu en heeft onder andere het zwavelhoudende aminozuur L-cysteïne nodig.

De beslissingsmatrix van de ISO 11731:2017, waarop deze procedure is gebaseerd, omvat vier stappen.

In stap 1 worden watermatrices als volgt ingedeeld:

- watermatrix A: water met lage concentratie interfererende micro-organismen (drinkwater)
- watermatrix B: water met hoge concentratie aan interfererende micro-organismen (koeltorenwater)
- watermatrix C: water met extreem hoge concentratie aan interfererende micro-organismen (zwaar beladen koeltorenwater).

Stap 2 geeft het te volgen analysesscenario aan:

¹ Afhankelijk van de producent van de agglutinatie of immunochromatografische test

² *Leg. pneumophila* serotype 1 is de meest belangrijke oorzaak van Legionellose er wordt dus beschouwd als het meest kritische type *Legionella* te vinden in een watermonster. Sinds het toenemend aantal gevallen van Legionellose veroorzaakt door andere serotypes dan *L. pneumophila* en door andere *Legionella species* worden andere *Legionella species* in water ook als potentieel risico beschouwd (zie Table A.1 — *Legionella species associated with disease in ISO 11731:2017*).

- rechtstreekse uitplating van het watermonster
- polycarbonaat of polyethersulfon membraanfiltratie (poriëngrootte 0,2 µm of 0,45 µm) gevolgd door een elutieprocedure met glasporels
- rechtstreekse verdunning van het watermonster en uitplating
- cellulose-nitraat of-ester membraanfiltratie (poriëngrootte 0,2 of 0,45 µm) en filter op plaat (optioneel met warmte voorbehandeling)

In stap 3 - om de groei van de geconcentreerde non-target bacteriën te verminderen die kunnen interfereren met de recovery van de beoogde *Legionella* - worden porties van een watermonster, een membraanfilter of een concentraat na elutieprocedure van stap 2 gecombineerd of aangevuld met warmte behandeling, zuur behandeling of een combinatie van beide.

In stap 4 wordt er aangegeven met welke *Legionella*-platen BCYE, BCYE+AB, GVPC of MWY de *Legionella* groei minimaal moet worden uitgevoerd. De behandelde porties of het ongefilterd monster of de membraanfilter worden geïnoculeerd op een voedingsbodem om de *Legionella* bacteriën, na incubatie, als karakteristieke kolonies te herkennen. Ter bevestiging wordt groei van presumptieve kolonies getest op BCYE(+cys) en BCYE-cys om voor de *Legionella* bacteriën hun L-cysteïne- en ijzerbehoefte aan te tonen. Nadien wordt de serologische typering uitgevoerd met behulp van een *Legionella* agglutinaties / immunochromatografische test, om finaal een eindresultaat te rapporteren. De platen aangegeven in stap 4 zijn telkens het minimaal aantal te gebruiken platen. De keuze om bijkomende platen te gebruiken kan een meerwaarde zijn (duplo's, inzetten van extra verdunningen, gebruik van BCYE-cys bij stap 4, ...).

In deze versie van WAC/V/A/005 werden, omwille van de vergelijkbaarheid van *Legionella* resultaten tussen erkende laboratoria, slechts een aantal van de keuzemogelijkheden vanuit ISO 11731:2017 weerhouden en werden bepaalde stappen uitgebreid.

3 OPMERKINGEN

Voor de monstername van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/001, WAC/I/A/002, WAC/I/A/003. Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010. Voor kwaliteitscontrole wordt verwezen naar WAC/VI/A/003.

Legionella bacteriën zijn pathogene klasse II micro-organismen, die vooral een gevaar betekenen wanneer ze aanwezig zijn in aerosolen, en als dusdanig een mogelijke bron zijn voor besmetting bij inademing.

Het laboratorium dient uitgerust te zijn met een microbiologische veiligheidswerkkast MVK (4.1.8). en een gevalideerde autoclaaf (4.1.1).

Elk werkoppervlak wordt voor en na gebruik ontsmet met een biocide naar keuze (5.1.2) of (5.1.3). Vóór het inoculeren van agarmedia in petriplaten, enkel indien nodig, dient het oppervlak van de agarplaten gedroogd te worden. Hiervoor worden de platen, met de agarbodem naar boven, dakpansgewijs van het deksel geplaatst en gedroogd in een MVK (4.1.8). Afhankelijk van de periode vanaf de bereidingsdatum tot het in gebruik nemen van de platen, kan de droogtijd variëren (15±20 minuten).

4 APPARATUUR EN MATERIAAL

4.1 APPARATUUR

- 4.1.1 Autoclaaf 121±3°C
- 4.1.2 Incubator 36±2°C
- 4.1.3 Waterbad 50±1°C
- 4.1.4 Schudtoestel
- 4.1.5 Vortex
- 4.1.6 Ultrasoon waterbad
- 4.1.7 Kolonietelapparaat
- 4.1.8 Microbiologische veiligheidswerkkast (MVK)
- 4.1.9 Filtratietoestel met pomp
- 4.1.10 Herlaadbare pipette controller

4.2 MATERIAAL

- 4.2.1 Pincet
- 4.2.2 Steriele cellulosenitraat of cellulose-ester membraanfilter 0,2 of 0,45 µm
- 4.2.3 Steriele polycarbonaat of polyethersulfon membraanfilter 0,2 µm of 0,45 µm
- 4.2.4 Steriele (centrifuge) buisjes
- 4.2.5 Steriele flesjes met brede hals en een bodemlaag (±10g) glaspereels diameter 3 mm
- 4.2.6 Instelbare pipetten en steriele tips met filter
- 4.2.7 Wegwerppipetten
- 4.2.8 Entnaald met Pt-öse
- 4.2.9 Drigalski spatel
- 4.2.10 Stereomicroscoop
- 4.2.11 UV lamp

5 REAGENTIA EN BEREIDINGEN

5.1 REAGENTIA

- 5.1.1 Ringer 1/40 oplossing of gelijkwaardig diluent - zie ISO 11731: 2017 Bijlage C
- 5.1.2 Umonium³⁸ 2,5% of gelijkwaardig biocide
- 5.1.3 Gedenatureerde ethanol 70% (of gelijkwaardig)
- 5.1.4 *Legionella* BCYE + L-cysteïne (BCYE) / BCYE(+cys)
- 5.1.5 *Legionella* BCYE + antibiotica (BCYE+AB)
- 5.1.6 *Legionella* platen type MWY
- 5.1.7 *Legionella* platen type GVPC
- 5.1.8 *Legionella* BCYE zonder L-cysteïne (BCYE-cys) (of bloed agar / nutriënt agar / TSA)
- 5.1.9 *Legionella* zure buffer - zie ISO 11731: 2017 Bijlage D
- 5.1.10 *Legionella* agglutinatie of immunochromatografische test
- 5.1.11 *Legionella pneumophila* referentiebacterie

6 PROCEDURE

6.1 MONSTERHOMOGENISATIE

Een monster wordt gehomogeniseerd door de fles grondig te schudden ofwel door de fles op een schudtoestel (4.1.4) te brengen en gedurende de voorbereidingen van de analyses te schudden.

6.2 BEHANDELING VAN WATERMONSTERS

De door de erkende laboratoria te volgen analyses scenario's worden weergegeven in onderstaand schema:

Drinkwater Scenario A

Analyse via **R** (rechtstreekse uitplating) fractie O (onbehandeld)

& **MF** (membraanfiltratie) + elutie, te filtreren volume minimaal 250 ml op 0,2 µm filter, desnoods 2 filters

Fracties

O (onbehandeld)

H (warmte behandeld)

Z (zuur behandeld)

Uitzondering:

Analyse via **MF** en filter op plaat voor heel lage aantallen *Legionella* & lage concentratie interfererende micro-organismen (volume < 250ml aanvaardbaar)

Koeltorenwater Scenario B

Analyse via **R** & via **MF** + elutie

Voor te filtreren volume streven naar 250 ml op 0,2 µm filter (criterium MF 15 minuten minimum 100 ml, zoniet scenario C) Telkens fracties

O

H

Z

Scenario C

Analyse via **R** & via **MF** + elutie

Filtratie heel moeilijk/niet mogelijk op 0,2 µm □ gebruik 0,45 µm filter Voor te filtreren volume streven naar 250 ml, desnoods 2 filters Telkens fracties

H

Z

H&Z

Om de detectie van *Legionella* uit **drinkwatermonsters** te waarborgen, dienen steeds én de concentratietechniek door membraanfiltratie gevolgd door elutieprocedure met glaspapels én de rechtstreekse uitplatingen uitgevoerd worden (zie verder 6.5.1).

In één geval is er een uitzondering:

- Uit voorkennis kan voor drinkwatermonsters met heel lage concentratie *Legionella* en een lage concentratie interfererende micro-organismen de membraanfiltratie gevolgd door

directe plaatsing (6.3.2) van het filtermembraan op twee agarmedia (zie verder 6.5.2) toegepast worden (dit om een lage detectiegrens te bekomen). De methode directe plaatsing mag enkel toegepast worden op zwembadwater dat sterk gechloreerd is, of als een bijkomende methode naast de membraanfiltratie en elutie.

Wanneer het *Legionella* analyseresultaat na membraanfiltratie en directe plaatsing van filter op plaat een niet telbare waarde is, en er geen ander resultaat beschikbaar is, dient een nieuw watermonster aangevraagd en ingezet te worden.

Om de detectie van *Legionella* uit **koeltorenwatermonsters** te waarborgen, dienen steeds én de concentratietechniek door membraanfiltratie gevolgd door elutieprocedure met glasporels én de rechtstreekse uitplatingen uitgevoerd te worden (zie verder 6.5.3 en 6.5.4).

Het aantal in te zetten platen wordt voor elk scenario in de tabellen onder 6.5 aangegeven.

Afhankelijk van het gewenste detectieniveau is het mogelijk om meer dan één plaat van de verschillende cultuurmedia te gebruiken.

6.3 CONCENTRATIE VAN WATERMONSTERS

6.3.1 Algemeen

Voor een algemene omschrijving van de membraanfiltratietechniek, zie ISO 8199.

6.3.2 Membraanfiltratie en elutieprocedure met glasporels

Filtreer voor watermatrix A minstens 250 ml (preferentieel 500 ml/1000 ml) watermonster door een 0,2 µm polycarbonaat of polyethersulfon membraanfilter (4.2.3), desnoods door gebruik te maken van 2 filters voor moeilijk filtreerbare drinkwaters.

Tracht voor watermatrix B minstens 250 ml watermonster te filtreren door een 0,2 µm polycarbonaat of polyethersulfon membraanfilter (4.2.3). Bij een niet vlotte filtratie wordt deze gedurende 15 minuten aangehouden, waarna minstens een volume van 100 ml watermonster gefiltreerd moet zijn. Wanneer hieraan kan worden voldaan mag overgegaan worden tot elutie, zoniet dient de methode voor watermatrix C gevolgd te worden. Het afwijkend gefiltreerde volume van het monster wordt geregistreerd.

Voor filtratie van zwaarbeladen moeilijk filtreerbare waters nl. watermatrix C waarvan de filtratie van 250 ml op een 0,2 µm filter heel moeilijk of niet mogelijk is (door interfererende flora of door aanwezigheid van dispersanten) wordt een 0,45 µm polycarbonaat of polyethersulfon membraanfilter gebruikt. Desnoods worden 2 filters gebruikt voor de filtratie van 250 ml; in dit geval worden beide filters samen in één elutiepotje met porels geëluëerd. Wanneer in uitzonderlijk geval bij gebruik van twee filters het beoogde volume van 250 ml niet kan worden bereikt, mag overgegaan worden tot de elutie. Bij afwijking van het beoogd volume van 250 ml, wordt het gefiltreerde volume van het monster geregistreerd.

Verwijder de membraanfilter uit de filterhouder met een gedesinfecteerde pincet (4.2.1). Plaats de membraanfilter(s) met de residu-kant naar beneden in een steriele flesje met schroefdop met steriele glasporels (4.2.5) waaraan 5 ml (tot 10 ml) steriel diluent (5.1.1) of monster toegevoegd is en schud krachtig met een vortex (4.1.5) gedurende tenminste 2 minuten om de micro-organismen van de membraanfilter te wassen. Als alternatief, plaats het flesje in een ultrasoon waterbad (4.1.6) gedurende een tijdsinterval dat gevalideerd is om optimale recovery te bekomen. Zorg ervoor dat het niveau van het diluent dat het membraan dekt onder het waterniveau in het ultrasoon waterbad ligt. Verdeel aansluitend dit concentraat in drie porties voor de behandelingen van stap 3.

Opmerking 1: in plaats van een behandeling met zuuroplossing op een portie van het concentraat kan een bijkomende membraanfiltratie worden uitgevoerd voor een rechtstreekse zuur voorbehandeling op de membraanfilter in de filterhouder (zie 6.4.2).

Opmerking 2: (Her)vortex elke portie net voor het uitplaten.

6.3.3 Membraanfiltratie en directe plaatsing van het filtermembraan op agarmedium

Filtreer (4.1.9) het drinkwatermonster (zonder behandeling, na zuur behandeling en optioneel na warmte behandeling) via een 0,2 of 0,45 μm cellulosenitraat of cellulose-esters membraanfilter (4.2.2) (zie 6.5.2 Uitzondering A1). De zuur behandeling kan ook direct op de membraanfilter in de trechter worden gedaan (zie 6.4.2). Het gefiltreerd volume is afhankelijk van het deeltjesgehalte van het water of van het gewenste detectieniveau, met een minimaal filtratievolume van 10 ml. Het gefiltreerd volume van het monster wordt geregistreerd. Verwijder voorzichtig de membraanfilter uit de filterhouder met een gedesinfecteerde pincet (4.2.1) en plaats deze rechtstreeks op het agarmedium (zonder behandeling op BCYE, met behandeling(en) op antibioticaplaat) met aandacht dat er geen luchtbellen onder gevangen zitten.

6.4 BEHANDELINGEN

6.4.1 Warmte behandeling

Breng het geconcentreerd of ongeconcentreerd watermonster in een steriel recipiënt en plaats dit in een waterbad (4.1.3) bij $(50 \pm 1)^\circ\text{C}$ gedurende (30 ± 2) min. Kleine volumes (≤ 5 ml) dienen te worden gebruikt om een korte periode te borgen om de gewenste temperatuur te bereiken. Indien veel monsters samen worden behandeld of grote monsters worden behandeld of dikwandige recipiënten worden gebruikt, controleer de temperatuur in een afzonderlijk recipiënt dat vergelijkbaar is met die van het monster. De tijd begint te lopen wanneer de gewenste temperatuur bereikt is. Grote monstervolumes of dikwandige containers moeten afgekoeld worden om oververhitting te vermijden nadat ze uit het waterbad zijn verwijderd.

6.4.2 Zuur behandeling

Verdun één volume van het geconcentreerd of ongeconcentreerd monster met negen volumes van de zure buffer (5.1.9), meng goed en laat inwerken gedurende $(5,0 \pm 0,5)$ min. Als het verdund en met zuur behandelde monster wordt gebruikt voor de berekening van de finale concentratie van *Legionella* in het monster, moet de verdunning in rekening worden gebracht. Volumes groter dan 0,1 ml kunnen worden uitgeplaat om de detectiegrens te verlagen.

Zuur behandeling kan na membraanfiltratie ook rechtstreeks op het membraanfilter in de filterhouder worden gedaan. Breng ongeveer 30 ml zure buffer (5.1.9) over op de membraanfilter, en laat het gedurende $(5 \pm 0,5)$ min inwerken. Verwijder de zuuroplossing door filtratie. Was de membraanfilter met minstens 20 ml diluent (5.1.1). Het is belangrijk dat het diluent het oppervlak van de filterhouder niet spoelt welke niet in contact was met de zuuroplossing.

6.5 KWEEK

6.5.1 Watermatrix A: drinkwatermonsters met een lage concentratie *Legionella* en een lage concentratie interfererende micro-organismen

Spatel (4.2.9) en inoculeer 0,1 (of 0,2) ml van elk net gevortexte geconcentreerd deel van het monster (onbehandeld, warmte behandeld en zuur behandeld) van de membraanfiltratie met elutieprocedure (zie 6.3.2) op één plaat BCYE-agar (5.1.4) en op één of meer selectieve of zeer selectieve platen van BCYE+AB-agar (5.1.5) of MWY-agar (5.1.6) of GVPC-agar plaat (5.1.7). Plaat bijkomend het watermonster rechtstreeks uit. Spatel (4.2.9) en inoculeer telkens 0,1 (of 0,2) ml van het monster op één BCYE-agar plaat (5.1.4) en één BCYE+AB-agar plaat (zie 5.1.5) of MWY-agar (5.1.6) of GVPC-agar (5.1.7).

		Stap 1	
		Watermatri x A	
		Drinkwatermonster met heel lage concentratie interfererende micro-organismen (6.5.1)	
		Stap 4	
Stap 2	Stap 3	BCY E ¹	BCYE+AB of MWY of GVPC ²
polycarbonaat of polyethersulfon membraanfiltratie 0,2 µm minstens 250 ml en elutieprocedure met glasparels	onbehandeld	x	x
	warmte behandeling	x	x
	zuur behandeling	x	x
rechtstreekse uitplating	onbehandeld	x	x

¹ Enkel voor de membraanfiltratie kan BCYE eventueel vervangen worden door BCYE+AB op voorwaarde dat de tweede antibiotica plaat MWY of GVPC is.

² Minstens één selectieve plaat of meerdere van deze selectieve antibiotica platen.

6.5.2 Uitzondering A1: voor drinkwatermonsters met een heel lage concentratie *Legionella* en een lage concentratie interfererende micro-organismen: rechtstreekse plaatsing van membraanfilter op agarmedium na membraanfiltratie

Filtreer het monster (zie 6.3.3) en plaats de onbehandelde membraanfilter rechtstreeks op één plaat BCYE-agar (5.1.4). De membraanfilters behandeld met een zuuroplossing volgens 6.4.2 worden geplaatst op één of meer selectieve of zeer selectieve platen van BCYE+AB-agar (5.1.5) of MWY-agar (5.1.6) of GVPC-agar (5.1.7).

		Stap 1	
		Watermatrix A	
		Drinkwatermonster met lage concentratie interfererende micro-organismen (6.5.2)	
		Stap 4	
Sta p 2	Stap 3	BC YE	BCYE+AB of MWY of GVPC ³
cellulose-nitraat of-ester membraanfiltratie 0,2 of 0,45 µm en filter op plaat (optioneel met warmte voorbehandeling)	onbehandeld	x	
	zuur behandeling		x

³ Minstens één selectieve plaat of meerdere van deze selectieve antibiotica platen.

6.5.3 Watermatrix B: koeltorenwaters met hoge concentratie interfererende micro-organismen

Gebruik watermonsters met een hoge concentratie van interfererende micro-organismen ongeconcentreerd (voor rechtstreekse uitplating) en geconcentreerd (membraanfiltratie + elutieprocedure zie 6.3.2) (en bijkomend het concentraat eventueel verdund (1:10)). Verdeel telkens elk submonster in drie porties. Gebruik een portie onbehandeld, het tweede gedeelte voor warmte behandeling (6.4.1) en het derde gedeelte voor behandeling met zuuroplossing (6.4.2). Spatel (4.2.9) en inoculeer 0,1 (of 0,2) ml van elk net gevortexte gedeelte van de submonsters minstens op één plaat MWY-agar (5.1.6) of op één plaat GVPC-agar (5.1.7).

		Stap 1
		Watermatrix B
		Watermonster: koeltorenwater met hoge concentratie interfererende micro-organismen (6.5.3)
		Stap 4
Stap 2	Stap 3	MWY of GVPC ⁴
polycarbonaat of polyethersulfon membraanfiltratie 0,2 µm van beoogd volume 250ml en elutieprocedure met glaspapieren	onbehandeld	x
	warmte behandeling	x
	zuur behandeling	x
rechtstreekse uitplating	onbehandeld	x
	warmte behandeling	x
	zuur behandeling	x

⁴ Minstens één selectieve plaat of meerdere van deze selectieve antibiotica platen.

6.5.4 Watermatrix C: zwaar beladen koeltorenwaters met extreme hoge concentratie interfererende micro-organismen

Gebruik watermonsters met een extreem hoge concentratie van interfererende micro-organismen ongeconcentreerd (voor rechtstreekse uitplating) en geconcentreerd op een 0,45 µm filter (membraanfiltratie + elutieprocedure zie 6.3.2) (en bijkomend het concentraat eventueel verdund (1:10)).

Behandel de geconcentreerde fractie en het ongeconcentreerd watermonster voor rechtstreekse uitplating telkens met warmte (6.4.1) en met zuur (6.4.2) en een derde portie met een combinatie van warmte en zuur. Voor deze gecombineerde behandeling wordt eerst de warmte behandeling (zie 6.4.1) gedaan, gevolgd door de zuur behandeling (zie 6.4.2) waardoor de verdunning 1:10 wordt bekomen. Eventueel wordt deze fractie na de dubbele behandeling nog eens extra verdund (= finaal 1:100) in steriel diluent (5.1.1). Het is belangrijk om het met warmte behandelde monster af te koelen tot kamertemperatuur voordat de zuur behandeling wordt uitgevoerd.

Spatel (4.2.9) en inoculeer 0,1 (of 0,2) ml van elk net gevortexte gedeelte van de submonsters minstens op één plaat MWY-agar (5.1.6) of op één plaat GVPC-agar (5.1.7).

		Stap 1
		Watermatrix C
		Watermonster: zwaar beladen koeltorenwater, ander afvalwater met extreem hoge concentratie interfererende micro-organismen (6.5.4)
		Stap 4
Stap 2	Stap 3	MWY of GVPC ⁶
polycarbonaat of polyethersulfon membraanfiltratie 0,45 µm ⁵ van beoogd volume 250ml en elutieprocedure met glaspereels	warmte behandeling	x
	zuur behandeling	x
	combinatie eerst warmte dan zuur behandeling	x
rechtstreekse uitplating (eventueel na verdunning)	warmte behandeling	x
	zuur behandeling	x
	combinatie eerst warmte dan zuur behandeling	x

⁵ Filtratie van beoogd volume van 250ml op een 0,45 µm filter, desnoods gebruik van 2 filters; beide filters worden samen in één elutiepotje met parels geëluëerd.

⁶ Minstens één selectieve plaat of meerdere van deze selectieve antibiotica platen.

6.5.5 Incubatie

Laat de geïnoculeerde platen staan totdat het geïnoculeerde volume is geabsorbeerd, draai de platen om en incubeer ze bij (36±2)°C (4.1.2) gedurende **10±1 d**. Maak een vochtige atmosfeer om uitdroging van de platen te voorkomen, bijvoorbeeld door ze in te pakken in plastic zakjes of dozen, of door te incuberen in een incubator met een vochtigheid-controlesysteem.

Opmerking: validatiegegevens met behulp van gespikete monsters hebben geen verschil in tellingen tussen 7 d en 10 d incubatie aangetoond. Natuurlijke monsters met wilde *Legionella* stammen kunnen echter de volledige incubatietijd van 10±1 d nodig hebben om de groei te bekomen.

6.5.6 Aflezen van de platen

Controleer de platen voor het eerst op dag 3, 4 of 5, dit ter identificatie van monsters waar zich overgroei voordoet, gevolgd door minstens een finale controle aan het einde van de incubatieperiode.

Voor drinkwater: bij de eerste aflezing op dag 3, 4 of 5, dient minstens het tijdstip van de controle geregistreerd te worden. Wanneer overgroei dreigt, dient ook het resultaat van de telling geregistreerd te worden. Bij de daaropvolgende aflezingen dienen het tijdstip en het resultaat van de controle geregistreerd te worden.

Voor koeltorenwater: bij elke aflezing dient het tijdstip en het resultaat van de controle geregistreerd te worden.

Het uiteindelijke kwantitatieve resultaat is enkel beschikbaar aan het einde van de incubatieperiode (6.5.5). Aangezien *Legionella* langzaam groeit en kan worden gemaskeerd door de groei van andere micro-organismen, worden platen bij voorkeur beoordeeld met een stereomicroscop (4.2.10) met schuine invalsverlichting. Noteer het aantal van elk type presumptieve aanwezige *Legionella*.

Legionella kolonies zijn in het algemeen witgrijs maar kunnen ook in andere kleuren verschijnen. Ze hebben een karakteristieke morfologie: kolonies hebben een gave rand en vertonen een typische matglazen uitstraling⁷.

⁷ De kolonies *Legionella pneumophila* vertonen vaak een groenroze rand onder een stereomicroscop

6.5.7 Bevestiging van Legionella verdachte kolonies met ultraviolet licht

Onder een ultraviolet lamp (4.2.11), autofluoresceren verschillende soorten *Legionella* kolonies als helderblauw/briljant wit (*L. anisa*, *L. bozemanii*, *L. cherrii*, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. gratiana*, *L. parisiensis*, *L. steigerwaltii* en *L. tucsonensis*); *L. erythra* en *L. rubrilucens* lijken rood. Kolonies *L. pneumophila* lijken dof groen, vaak met gele tinten, en autofluoresceren niet. De kleur van de fluorescentie kan bijdragen tot het differentiëren van kolonies in monsters die verschillende soorten *Legionella* bevatten. Om te vermijden dat *Legionella* kolonies kunnen worden of beschadigd of afgedood zodat ze niet verder kunnen worden gekweekt, mogen platen niet langer aan ultraviolet licht blootgesteld worden dan nodig is. Er dient opgemerkt te worden dat nieuwe soorten *Legionella* andere eigenschappen kunnen bezitten dan deze hierboven beschreven. *Legionella* verdachte kolonies die onder UV licht helderblauw/briljant wit oplichten hoeven niet te worden bevestigd en worden gerapporteerd als *Legionella* species (non-pneumophila). Van de presumptieve *Legionella* die niet onder UV fluoresceren worden nog steeds (minstens) 6 kolonies verder bevestigd via de gebruikelijke bevestigingsstappen zie 6.6, 0 en 6.8 (overenting / serotypering of Maldi-Tof / serotypering).

6.6 BEVESTIGING VAN PRESUMPTIEVE LEGIONELLA KOLONIES OP CULTUURMEDIA BCYE(+CYS) EN BCYE-CYS AGAR

In de loop van de incubatie van de platen die onder 6.5.5 wordt uitgevoerd dienen er **per behandeling** bevestigingstesten gedaan te worden, vertrekkend van de pla(a)t(en) met het hoogste aantal **presumptieve** *Legionella* kolonies per volume-eenheid (zie 6.5.6). Kies per behandeling en per morfologische vorm minstens twee presumptieve *Legionella* kolonies, met een minimum van 6 presumptieve *Legionella* kolonies in totaal van alle behandelingen (indien het totaal presumptieve *Legionella* kolonies minder dan zes kolonies bedraagt worden alle presumptieve *Legionella* kolonies bevestigd).

Legionella kolonies behorende tot verschillende species en/of serotypes vertonen doorgaans verschillen⁸ in morfologie of kleur, en zijn mogelijks ook na verschillende incubatietijden zichtbaar (*Legionella pneumophila* bijvoorbeeld is reeds zichtbaar na 3 dagen incubatie, bepaalde *Legionella* species worden pas na 5 dagen incubatie zichtbaar). Op die basis kunnen *Legionella* kolonies van verschillende types op eenzelfde of verschillende platen worden onderscheiden.

Voor de bevestiging worden de presumptieve *Legionella* bacteriën overgeënt met een entnaald met Pt-öse (4.2.8) op één BCYE(+cys) plaat (5.1.4) en één BCYE-cys plaat of evenwaardig (5.1.8). Neem de nodige voorzorgen om geen cultuurmedium samen met de kolonie over te brengen en ent eerst een plaat van BCYE-cys agar plaat en pas daarna de BCYE(+cys)-agar plaat.

De platen worden geïncubeerd gedurende 3 d tot 5 d bij $36 \pm 2^\circ\text{C}$ (4.1.2) tot er groei optreedt. Platen die na drie dagen geen groei vertonen worden verder geïncubeerd tot 5 dagen. *Legionella* vertoont groei op de BCYE(+cys) en niet op de BCYE-cys. Noteer de resultaten voor elke plaat.

L. oakridgensis en *L. spiritensis* vereisen L-cysteïne en ijzer (III) voor de primaire isolatie, maar groeien daarna soms zwak in afwezigheid van toegevoegd L-cysteïne. Bijgevolg moet een zorgvuldige vergelijking gemaakt worden met de verschillen in groeimedia met of zonder toevoeging.

⁸ Belangrijk: het kan voorkomen dat verschillende species of serotypes toch eenzelfde morfologie vertonen, en andersom kunnen kolonies met verschillende morfologie toch tot eenzelfde species of serotype behoren.

6.7 BIJKOMENDE BEVESTIGING VIA SEROTYPERING VAN PRESUMPTIEVE *LEGIONELLA* KOLONIES MET EEN AGGLUTINATIE OF IMMUNOCHROMATOGRAFISCHE TEST

De *Legionella* kolonies dienen bijkomend bevestigd te worden via serotypering met een agglutinatietest of met een immunochromatografische test (5.1.10). Alle presumptieve *Legionella* bacteriën die groei vertonen op de BCYE(+cys) en niet op de BCYE-cys uit 6.6. worden getest volgens de procedure in de bijsluiters.

Voor de agglutinatietest gaan antilichaampartikels agglutineren in aanwezigheid van specifieke *Legionella* celwandantigenen waarbij duidelijke zichtbare precipitaten worden gevormd.

Voor serotypering met de immunochromatografische test voor de kwalitatieve detectie van *Legionella* wordt een immunoassay uitgevoerd.

Een test dient een indeling in drie groepen toe te laten:

Legionella pneumophila serotype 1

Legionella pneumophila serotype 2-14 (2-15)

Legionella species (non-*pneumophila*).

Alle waarnemingen worden genoteerd.

Met bepaalde commerciële serologische kits voor serotypering van "*Legionella* species non-*pneumophila*" worden er slechts een zevental species bepaald (*L. longbeachae* 1 en 2, *L. bosemanii*, *L. dumofii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei*, *L. anisa*).

Wanneer presumptieve *Legionella* niet groeien op BCYE-L-cysteïne en wel groeien BCYE+L-cysteïne en niet reageren met het *Legionella* species reagens betekent dit niet dat ze geen *Legionella* zijn. Ze kunnen tot een ander species behoren dan *L. pneumophila*, *L. longbeachae*, *L. bosemanii*, *L. dumofii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei*, *L. anisa*. Hier biedt het gebruik van bv. MALDI-TOF (zie 6.8) een grote ondersteuning voor een correcte identificatie van presumptieven die mogelijk behoren tot species die niet met een kit geserotypeerd worden.

De immunochromatografische test daarentegen laat de detectie toe van alle *Legionella* species. Met een dergelijke kit worden om elk *Legionella*-isolaat te classificeren monoklonale antilichamen Mab (monoclonal antibodies) tegen verschillende componenten van de bacteriecelwand gebruikt. Mabs tegen de peptidoglycan-geassocieerd lipoproteïne PAL voorkomend in alle *Legionella*-soorten wordt gebruikt voor de *Legionella* genusdetectie.

6.8 IDENTIFICATIE VAN *LEGIONELLA* DOOR MIDDEL VAN MALDI-TOF MS (MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION-IONIZATION TIME-OF-FLIGHT MASS SPECTROMETRY)

Voor de identificatie van *Legionella* en ter aanvulling van de bevestigingstesten kan gebruik gemaakt worden van de MALDI-TOF MS technologie. Hiervoor dient wel een verificatie uitgevoerd te worden conform ISO 16140.

Voor de identificatie van *Legionella* door middel van MALDI-TOF MS dient zoals aangegeven in 6.6 per behandeling en per morfologische vorm minstens twee presumptieve *Legionella* kolonies, met een minimum van 6 presumptieve *Legionella* kolonies in totaal van alle behandelingen getest te worden. Voor deze bevestiging kan er weliswaar gekozen worden om voorafgaandelijk geen overenting op BCYE(+cys) (5.1.4) / BCYE-cys plaat of evenwaardig (5.1.8) uit te voeren.

7 REAL-TIME PCR-DETECTIE EN KWANTIFICATIE VAN *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* IN DRINKWATER VOOR SCREENING IN KADER VAN EEN BEHEERSPLAN

7.1 PRINCIPE

De aanwezigheid van *Legionella pneumophila* in een drinkwatermonster wordt aangetoond door real-time PCR uit te voeren volgens de referentiemethode ISO/TS 12869. Een watermonster wordt eerst gefiltreerd, het DNA vanop de filter wordt geëxtraheerd en opgezuiverd met een purificatiekit. Dit DNA-extract wordt gebruikt voor een specifieke amplificatie van een DNA-sequentie dat codeert voor het virulentiegen mip.

Het al dan niet optreden van een PCR signaal wijst op de aan- of afwezigheid van *Legionella pneumophila* in het watermonster.

Bij real-time PCR gaat tijdens amplificatiecycli een fluorescent gelabelde probe specifiek voor de geamplificeerde sequentie gaan hybridiseren met het amplicon. Deze probe geeft enkel een fluorescerend signaal vrij in gebonden toestand met zijn target sequentie, zoniet wordt het fluorescerend signaal gequencht (geabsorbeerd). De intensiteit van het fluorescerend signaal stijgt tijdens de PCR-reactie volgens de hoeveelheid van het amplicon in het monster. Deze fluorescentie wordt gedetecteerd door de optische unit van een geschikte real-time PCR toestel met fluorofoor specifieke filters en wordt met behulp van software weergegeven als een duidelijk te interpreteren resultaat.

Het al dan niet optreden van een fluorescerend signaal wijst op de aan- of afwezigheid van *Legionella pneumophila* in het watermonster.

Bij de kwantitatieve real-time PCR wordt een kalibratiecurve gemaakt met een standaardreeks DNA, en kan het target DNA gekwantificeerd worden.

Een volledige validatie dient aan te tonen dat deze alternatieve microbiologische methode geschikt is voor detectie van *Legionella pneumophila* in drinkwater (ISO 16140).

Voor implementatie is het dus aangewezen om een real-time PCR toestel samen met een commerciële kit bestemd voor real-time PCR-detectie en voor de DNA-extractie te gebruiken die reeds gevalideerd is door een derde partij. Dan dient voor ingebruikname geen diepgaande validatie meer uitgevoerd te worden, maar slechts een verificatie, zoals aangegeven in ISO/TS 12869 en NF T90-471.

7.2 PERFORMANTIEKARAKTERISTIEKEN KWALITATIEVE REAL-TIME PCR EN KWANTITATIEVE REAL-TIME PCR (qPCR)

Voor de kwalitatieve real-time PCR verificatie dienen concreet volgende criteria nagezien te worden:

- Positieve en negatieve controles
- Robuustheid van de methode, op steriele watermonsters en op een complexe matrix
- Deelname aan een interlaboratorium ringtest

Voor de qPCR verificatie dienen concreet volgende criteria nagezien te worden:

- Evaluatie van de kalibratiecurve
- Verificatie van de kwantificatielimiet LQqPCR uit de validatieprocedure
- Verificatie van de detectielimiet LDqPCR
- Robuustheid van de methode, op steriele watermonsters en op een complexe matrix
- Deelname aan een interlaboratorium ringtest.

Het betreft hier een beperkte verificatie omdat de kwantitatieve real-time PCR voorlopig enkel kan ingezet worden voor screening doeleinden, gezien het niet eenduidig verband tussen qPCR (GU/l) en kweek (kve/l).

7.3 SCREENING

Het is de bedoeling om de real-time PCR-techniek in te zetten louter voor het screenen van watermonsters binnen een beheersplan. Hiertoe wordt een 'dubbel' volume bemonsterd⁹, en een standaard volume getest met real-time PCR. Van de monsters die positief zijn (voor kwalitatieve real-time PCR een positief signaal) (voor qPCR dus met een resultaat groter dan de kwantificatielimiet LQqPCR), wordt het standaardvolume water onderworpen aan de uitplaatmethode voor kwantificatie, en wordt het resultaat van deze methode gerapporteerd. Voor monsters waarbij het resultaat met real-time PCR melding maakt van partiële, totale inhibitie, of een ongeldig resultaat wordt overgegaan tot de uitplaatmethode.

Voor monsters die negatief uit de real-time PCR komen, stopt de analyse en wordt een negatief resultaat gerapporteerd.

Indien een installatie dient gescreend en bemonsterd te worden waarbij voor desinfectie een 'thermische shockbehandeling' is uitgevoerd, dient de bemonstering minstens 24 uur na deze behandeling uitgevoerd te worden, daar er mogelijk nog aanwezige *Legionella* DNA fragmenten tijdens de PCR zouden kunnen interfereren.

Via de PCR-screening wordt enkel de wettelijke drinkwaterparameter *Legionella pneumophila* bepaald die beschouwd kan worden als indicatorparameter voor screening van installaties binnen een beheersplan.

Een negatief resultaat van de PCR-screening wordt uitgedrukt als "*Legionella pneumophila*: niet gedetecteerd" in het onderzochte volume, met de verwijzing naar de gebruikte methode.

8 SPECIFIEKE RICHTLIJNEN BIJ EEN KLINISCH BEVESTIGDE LEGIONELLOSE OF EEN UITBRAAK

8.1 AFLEZEN VAN DE PLATEN BIJ EEN KLINISCH BEVESTIGDE LEGIONELLOSE OF EEN UITBRAAK

Controleer de platen op dag 3, 4 of 5 zodat reeds overgegaan kan worden naar de bevestigingstest (zie 6.6). Na 3 tot 5 dagen incubatietijd van de bevestigingsplaten en uitvoeren van de serotypering (zie 0 en 6.8) dient dan aan het Agentschap Zorg en Gezondheid een indicatief *Legionella* resultaat doorgegeven te worden in het kader van verplichte melding bij vastgestelde Legionellose of een uitbraak.

De incubatie wordt dan verder gezet tot het einde van de volledige periode van 10±1 dagen waarna nogmaals de aflezing en bevestiging (bij bijkomende waargenomen verdachte groei) wordt uitgevoerd (zie 6.5.6, 6.6 en 0), en finaal opnieuw gerapporteerd aan het Agentschap Zorg en Gezondheid.

⁹ Zie WAC/I/A/001 of WAC/I/A/002

8.2 BEVESTIGING VAN PRESUMPTIEVE LEGIONELLA KOLONIES

Indien species-identificatie van de *Legionella* kolonies moet worden uitgevoerd (zie ISO 11731: 2017 Bijlage G) en opgenomen in het testrapport, dienen alle typische morfologieën uit alle platen te worden bevestigd en worden de identificaties gemeld.

8.3 SCREENING MET PCR

Screening (zie 7.3) enkel op *Legionella pneumophila* is niet van toepassing bij een klinisch bevestigde Legionellose of bij een uitbraak, gezien ook *Legionella non-pneumophila* Legionellose kunnen veroorzaken.

9 RAPPORTERING

9.1 FORMULES

Bereken het aantal kve/l *Legionella* in het oorspronkelijke monster (zie voorbeelden hieronder), conform ISO 8199, als volgt.

- ✓ Membraanfiltratie met elutieprocedure (onrechtstreekse filtratie)

$$C_s = \frac{a \times V_c}{V \times V_{\text{tot}}} \times V_s$$

- ✓ Rechtstreeks uitplating

$$C_s = \frac{a}{V_{\text{tot}}} \times V_s$$

- ✓ Membraanfiltratie, filter op plaat

$$C_s = \frac{a}{V_{\text{tot}}} \times V_s$$

Waarbij:

C_s is het aantal *Legionella* in kve/l

a is het aantal berekende bevestigde *Legionella* kolonies

$$a = \frac{\text{fractie positief bevestigd}}{\text{fractie totaal bevestigd}} \times \text{totaal aantal}$$

V_c is het (geconcentreerde) monstervolume in ml

V is het monstervolume geïnoculeerd per plaat of set platen (van zelfde groeimedium) in ml

V_{tot} is het totaal geanalyseerd monstervolume in ml

V_s is het gekozen referentievolumen om de concentratie van de micro-organismen in het watermonster weer te geven (gewoonlijk 1 000 ml)

[...]

9.2 AFSPRAKEN MET BETREKKING TOT RAPPORTERING

Rapporteer voor zowel **drinkwater** en **koeltorenwater**:

Legionella pneumophila serotype 1

Legionella pneumophila serotype 2-14 (2-15)

Legionella species (non- *pneumophila*)

Rapporteer telkens de hoogste omgerekende waarde in kve/l uit de voor de bevestigingstesten weerhouden platen, onafhankelijk vanuit membraanfiltratie of rechtstreekse uitplating, rekening houdend met de hieronder beschreven bijkomende voorwaarden. Bij het bepalen van de hoogste omgerekende waarde in kve/l dient rekening gehouden te worden met de verdunning.

Bij de rapportering vanuit de rechtstreekse uitplating (R) gelden **voor elk van de verschillende *Legionella* species** volgende bijkomende voorwaarden:

- ~~vanaf 3 kolonies op een plaat word(t)(en) de waarde(n) uit rechtstreekse uitplating gerapporteerd indien dit de hoogste omgerekende waarde is~~
- ~~bij het tellen van minder dan 3 kve/plaat wordt voor de verschillende *Legionella* species elk resultaat gerapporteerd uit de membraanfiltratie met elutie~~
- ~~bij het tellen van 1 of 2 kolonies van de verschillende *Legionella* species moet hiervan de aanwezigheid als opmerking op het analyseverslag worden vermeld.~~
- **indien het aantal kolonies op een plaat minstens 3 bedraagt en een hoogste omgerekende waarde van ≥ 30.000 kve/l geeft, wordt vanuit de rechtstreekse uitplating gerapporteerd**
- **in de andere gevallen wordt gerapporteerd uit de membraanfiltratie met elutie**
- **indien de aanwezigheid van kolonies op de R een hoogste omgerekende waarde geeft en deze < 30.000 kve/l bedraagt, moet de aanwezigheid van deze kolonies als opmerking op het analyseverslag worden vermeld.**

Dit kan op twee manieren:

- o Zonder indicatieve waarde:
Een hoger eindresultaat van de rechtstreekse uitplating werd niet in rekening gebracht wegens een laag aantal kolonies per species geteld
- o Met indicatieve waarde:
Een hoger eindresultaat van de rechtstreekse uitplating (indicatief: x kve/l) werd niet in rekening gebracht wegens een laag aantal kolonies per species geteld
- **wanneer er geen resultaat is bij membraanfiltratie maar wel 1 of 2 kolonies op rechtstreekse uitplating moet een volwaardig eindresultaat gerapporteerd worden van bv. 10.000 resp. 20.000 kve/l; **als opmerking wordt dan op het analyseverslag aangegeven dat enkel een resultaat bekomen werd vanuit de rechtstreekse uitplating op basis van een laag aantal kolonies nl. 1 of 2 per species.****

Rapporteer bijkomend voor **koeltorenwater**:

het totale aantal *Legionella* spp, namelijk de som van de waarden *Legionella pneumophila* serotype 1 + *Legionella pneumophila* serotype 2-14(15) + *Legionella* species non-pneumophila.

Hierbij worden waarden < rapportagegrens als nul beschouwd.

Zoals aangegeven in 0 worden niet alle *Legionella* species non-pneumophila gedetecteerd bij gebruik van bepaalde agglutinatie kits. Het te rapporteren aantal *Legionella* species non-pneumophila is dan het aantal dat groeit op BCYE+cys én geen groei vertoont op BCYE-cys én via de bevestigingstest niet als *Legionella pneumophila* bepaald wordt.

Uitzonderlijk kan bij de serotypering geen onderscheid gemaakt worden tussen *Legionella pneumophila* serotype 1 en serotype 2-14 (2-15):

- wanneer een kruisreactie ontstaat, d.w.z. wanneer de serotypering geen éénduidig resultaat oplevert

- wanneer morfologisch identieke presumptieve *Legionella* kolonies bij de serotypering geen éénduidig resultaat opleveren.

Rapporteer in dit geval niet *Legionella pneumophila* serotype 1 en *Legionella pneumophila* serotype 2-14 (2-15) afzonderlijk, maar de som van beiden.

Bij afwezigheid, wordt [...] de rapportagegrens vermeld in kve/l berekend volgens de gebruikte procedure (zie ISO 11731: 2017 tabel J.1). Indien een verdunningsfactor van toepassing is wordt de rapportagegrens met deze factor verhoogd.

In geval er geen of slechts een tussentijds resultaat beschikbaar is vanwege overgroei, is een opmerking op het analyseverslag vereist:

- indien er van alle geïncubeerde platen door overgroei geen enkel resultaat voor *Legionella* kan gegenereerd worden, dan betekent dit niet dat er geen *Legionella* aanwezig is in het watermonster. Hier dient de opmerking aangegeven te worden dat 'door overgroei van interfererende flora niet kan gegarandeerd worden dat *Legionella* in het watermonster afwezig is'. In geen geval mag het resultaat uitdrukt worden als "niet gedetecteerd" in het onderzochte volume of mag < rapportagegrens als resultaat doorgegeven worden.
- indien er eerst een tussentijdse telling van gedetecteerde presumptieve (en na bevestiging aangetoonde) *Legionella* is uitgevoerd en in latere fase door overgroei van interfererende flora geen finaal *Legionella* resultaat kan bepaald worden, dient bij het resultaat van de tussentijdse telling een opmerking aangegeven te worden dat 'door overgroei van interfererende flora voor dit watermonster enkel een indicatief *Legionella spp.* resultaat kan gerapporteerd worden'.

Voor de rapportering in geval van PCR-screening gelden andere afspraken zie 7.

9.3 VOORBEELDEN

- Filtratie van drinkwater 1000 ml; uitplatingen 100 µl

	DW aantal kolonies omgerekend met verdunning 1/10 via zuurbehandeling							
	R		MF elutie in 5 ml oplossing					
			onbehandeld		warmte		z u u r	
	B C Y	BCYE+ AB	BCY E	M W	B C Y	MW Y	BCYE	MWY
<i>Legionella pneumophila</i> serotype 1								
<i>Legionella pneumophila</i> serotype 2-14(15)								
<i>Legionella species</i>								

□ rapporteer 3.10⁴ of 30.000 kve/l *Legionella pneumophila* serotype 1
 2.10³ of 2.000 kve/l *Legionella pneumophila* serotype 2-14(15)
 < 50 kve/l *Legionella species* (non- *pneumophila*)

- Filtratie van koeltorenwater 250 ml; uitplatingen 100 µl

	AW scenario B aantal kolonies omgerekend met verdunning 1/10 via zuurbehandeling								
	R			MF elutie in 5 ml oplossing					
				onbehandeld		warmte		z u u r	
	G V P C								
<i>Legionella pneumophila</i> serotype 1									
<i>Legionella pneumophila</i> serotype 2-14(15)									
<i>Legionella species</i>									

□ rapporteer 1,4.10⁴ of 14.000 kve/l *Legionella pneumophila* serotype 1
 < 200 kve/l *Legionella pneumophila* serotype 2-14(15)

6,2.10³ of 6.200 kve/l *Legionella* species (non- *pneumophila*) (opmerking: een hoger eindresultaat van de rechtstreekse uitplating (10.000 kve/l *Legionella* species (non-*pneumophila*)) werd niet in rekening gebracht wegens een laag aantal kolonies geteld)

Totaal aantal *Legionella*: 2,02.10⁴ of 20.200 kve/l

9.4 MINIMALE INHOUD RAPPORT

Vermelding in het rapport:

- de resultaten
- het volume van het in behandeling genomen watermonster
- de verwijzing naar de betreffende WAC methode en de verwijzing van het gebruikte scenario of watermatrix
- de monsteromschrijving en gegevens van het monsternamformulier
- de gemeten temperatuur bij monsternam
- de monsternemer
- bijzondere opmerkingen (bv. het gebruik van 0,45 µm filter voor watermatrix C bij de elutieprocedure)

10 REFERENTIES

- ISO 11731 (2017) Water quality - Enumeration of *Legionella*
- ISO 8199:2018 Water quality - General requirements and guidance for microbiological examinations by culture.
- ISO 16140-1:2016 Microbiology of the food chain - Method validation - Part 1: Vocabulary
- ISO 16140-2:2016 Microbiology of the food chain - Method validation - Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method
- WAC/I/A/010 Conservering en behandeling van watermonsters
- WAC/VI/A/003 Kwaliteitseisen voor de analysemethoden
- Bevestiging van *Legionella* verdachte kolonies [met ultraviolette licht](#) die geïsoleerd zijn uit water.
- ISO/TS 12869:2019 Water quality - Detection and qualification of *Legionella* spp. and/or *Legionella pneumophila* by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR)
- An international trial of quantitative PCR for monitoring *Legionella* in artificial water systems. J.V. Lee et al Journal of Applied Microbiology 110, 1032-1044 2011
- NF T90-471 Juin 2015 Qualité de l'eau - Détection et quantification des *Legionella* et/ou *Legionella pneumophila* par concentration et amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne en temps réel (qPCR)
- <https://www.zorg-en-gezondheid.be/sites/default/files/atoms/files/Legionella%20Final.pdf>
- MALDI-TOF MS
<http://www.gene-quantification.de/qpcr-ngs-2013/posters/P036-qPCR-NGS-2013.pdf>
- http://www.afsca.be/laboratoria/labinfo/documents/2015-04_labinfo13-p12_nl.pdf
- Pavlovic, Melanie, et al. "Application of MALDI-TOF MS for the identification of food borne bacteria." The open microbiology journal 7 (2013): 135.

Bepaling van *Pseudomonas aeruginosa*

INHOUD

1	Toepassingsgebied	3
2	Principe	3
3	Opmerkingen	4
4	Reagentia en bereidingen	5
5	Apparatuur en materiaal	5
6	Procedure	5
6.1	<i>Monstervoorbereiding</i>	5
6.2	<i>Analyse via de membraanfiltratie</i>	6
6.3	<i>Bevestigingstesten vanuit PCN</i>	6
6.4	<i>Identificatie van <i>Pseudomonas aeruginosa</i> door middel van MALDI-TOF MS (MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION-IONIZATION TIME-OF-FLIGHT MASS SPECTROMETRY)</i>	7
6.5	<i>Telling</i>	7
7	Rapportering	8
7.1	<i>Rapport</i>	8
8	Referenties	8

1 TOEPASSINGSGEBIED

Dit voorschrift volgt enerzijds de ISO 16266:2006 procedure, die een methode geeft voor het aantonen en kwantificeren van *Pseudomonas aeruginosa* in water.

De procedure is van toepassing bij het onderzoek van gebotteld water alsook bijvoorbeeld van water bestemd voor menselijke consumptie, recreatiewater en oppervlaktewater.

Anderzijds kan het NF gevalideerde medium RAPID'*P.aeruginosa* agar aangewend worden als alternatieve methode vergelijkbaar met de norm ISO 16266 (zie 8 Referenties).

Het RAPID'*P.aeruginosa* is geschikt voor het testen van water voor menselijke consumptie, gebotteld water en onbehandeld water, zoals putwater, recreatiewater en oppervlaktewater.

Een aangewende analysemethode dient conform de WAC methode te zijn. Het meetprincipe mag niet anders zijn, en het isolatiemedium moet hetzelfde zijn. Afwijkingen mogen niet kritisch zijn en geen invloed hebben op een resultaat. Extra stappen zijn aanvaardbaar, zolang ze het resultaat enkel meer ondersteunen.

2 PRINCIPE

Pseudomonas aeruginosa zijn opportunistische humane (en animale en plant-) pathogenen, in staat om te groeien in water met heel lage concentraties aan voedingsstoffen.

Bacteriën van het genus *Pseudomonas* zijn Gram-negatieve, katalase positieve niet-sporevormende staafjes die beweeglijk zijn door het bezit van één of meer polaire flagellen. Ze zijn strikt aëroob (uitgez. soorten die nitraat als waterstofacceptor kunnen gebruiken) en zetten suikers uitsluitend oxidatief om. Vele stammen produceren pigmenten waaronder het geel-groene pyoverdine en het blauwe pyocyanine die van diagnostische waarde zijn. Cf. ISO 16266 is er om de pigmentproductie te bevorderen in het groeimedium magnesiumchloride en kaliumsulfaat aanwezig. Cetrimide is de selectieve agens van *Pseudomonas* in het groeimedium.

De analyse omvat een membraanfiltratie (0,45µm) van een bepaald volume water, en het aantal karakteristieke kolonies op het membraan worden geteld na incubatie. Pyocyanine producerende kolonies worden als bevestigde *Pseudomonas aeruginosa* beschouwd. Andere fluorescerende of roodbruine kolonies vereisen een bevestiging.

Ter specifieke bevestiging worden presumptieve kolonies gegroeid op nutrient agar (of een gelijkwaardig niet-selectief medium zonder fermenteerbare C-bron). Na incubatie worden culturen die initieel niet fluorescent waren getest op oxidase reactie. De oxidase-positieve culturen worden getest op de productie van fluoresceïne en de eigenschap om ammoniak te produceren vanuit acetamide. Culturen die oorspronkelijk fluorescent waren worden getest op de eigenschap om ammoniak te produceren uit acetamide.

RAPID'*P.aeruginosa* is een selectief chromogeen medium voor de directe telling van *Pseudomonas aeruginosa* met behulp van de membraanfiltratiemethode zonder verdere bevestigingstesten.

Het principe van het RAPID'*P.aeruginosa*-medium is gebaseerd op de opsporing van een enzymatische activiteit die typisch is voor *Pseudomonas aeruginosa*. Onder invloed van het enzym wordt een specifiek chromogeen substraat gesplitst, wat leidt tot de vorming van een blauw tot blauwgroen neerslag op de *Pseudomonas aeruginosa*-kolonies.

Het selectieve mengsel remt het merendeel van de interfererende flora en andere *Pseudomonas* species. Hun kolonies zien er transparant of geel gepigmenteerd uit en zijn gemakkelijk te onderscheiden van die van *Pseudomonas aeruginosa*.

In de directieven van 80/777/EEC is omschreven dat vanaf de bron en ook bij de verkoop van mineraal water of bronwater deze vrij moet zijn van *Pseudomonas aeruginosa* (in een monster van 250 ml).

Andere te koop aangeboden gebottelde waters moeten eveneens vrij zijn van *Pseudomonas aeruginosa* in 250 ml (Directieven van 98/83/EC).

Waters zoals oa. zwemwaters worden getest, en water voor menselijke consumptie kan met het oog op volksgezondheid worden getest op *Pseudomonas aeruginosa*.

Het aantal kve *Pseudomonas aeruginosa* wordt dan per 100 ml bepaald.

Theoretisch kan de aanwezigheid van 1 kolonievormende eenheid per 100 ml bepaald worden. Door de aanwezigheid van stoorflora en andere matrix-invloeden is dit niet altijd het geval.

Omschrijving van *Pseudomonas aeruginosa* conform de ISO 16266

Pseudomonas aeruginosa zijn micro-organismen die:

- groeien op selectieve media die cetrimide bevatten en die pyocyanine produceren
- of groeien op selectieve media die cetrimide bevatten, oxidase positief zijn en fluoresceren onder UV 360 ± 20 nm en die in staat zijn ammoniak te produceren uit acetamide
- of groeien op RAPID'*P.aeruginosa* agar onder vorm van blauwe tot blauwgroene kolonies.

Pseudomonas aeruginosa is het type species van het genus *Pseudomonas*.

Het is een Gram-negatieve, niet-sporevormende staaf dat oxidase en katalase positief is. Het vertoont oxidatieve metabolisme zoals weegegeven door Hugh en Leifson test, reduceert normaal nitraat tot een verder stadium dan nitriet en produceert ammoniak uit de afbraak van acetamide, en de meeste stammen (98%) produceren een wateroplosbaar fluorescerend pigment. Het overgrote deel van de stammen groeien bij 42°C en niet bij 4°C. Op deze basis kan een onderscheid worden gemaakt tussen *Pseudomonas aeruginosa* en *Pseudomonas fluorescens* die groeit bij 4°C en niet bij 42°C. Gelatine wordt vervloeid, caseïne gehydrolyseerd, maar zetmeel wordt niet gehydrolyseerd. Het pigment pyocyanine (blauw/groen) wordt door meer dan 90% van de stammen geproduceerd.

3 OPMERKINGEN

Voor de conservering en behandeling van watermonsters wordt verwezen naar WAC/I/A/010.

Voor kwaliteitscontrole wordt verwezen naar WAC/VI/A/003.

Het laboratorium dient uitgerust te zijn met een microbiologische veiligheidswerkkast MVK (5.1.7). en een gevalideerde autoclaaf (5.1.8).

Elk werkoppervlak wordt voor en na gebruik ontsmet met een biocide naar keuze (4.1.8).

Vóór het inoculeren van agarmedia in petriplaten, enkel indien nodig, dient het oppervlak van de agarplaten gedroogd te worden. Hiervoor worden de platen, met de agarbodem naar boven, dakpansgewijs van het deksel geplaatst en gedroogd in een MVK (**Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**). Afhankelijk van de periode vanaf de bereidingsdatum tot het in gebruik nemen van de platen, kan de droogtijd variëren (15±20 minuten).

4 REAGENTIA EN BEREIDINGEN

- 4.1.1 Pseudomonas agar base + supplement PCN platen of RAPID'*P.aeruginosa* agar
- 4.1.2 King's B medium
- 4.1.3 Acetamide bouillon
- 4.1.4 Nutrient agar platen
- 4.1.5 Oxidase reagens
- 4.1.6 Nessler reagens
- 4.1.7 Ringer 1/40¹ oplossing
- 4.1.8 Umonium³⁸ 2,5% of gelijkwaardig biocide
- 4.1.9 ultra puur water

5 APPARATUUR EN MATERIAAL

- 5.1.1 Schudtoestel
- 5.1.2 Pipetus akku
- 5.1.3 Filtratietoestel met pomp
- 5.1.4 Membraandispenser met steriele cellulose ester 0,45 µm filters
- 5.1.5 Incubator 36 ± 2°C
- 5.1.6 Kolonietelapparaat
- 5.1.7 Veiligheidskabinet
- 5.1.8 Autoclaaf 121 ± 3°C
- 5.1.9 Wegwerppipetten
- 5.1.10 Steriele flessen
- 5.1.11 Automatische pipetten en wegwerptips
- 5.1.12 Pincet
- 5.1.13 Entnaald met Pt-öse
- 5.1.14 UV lamp met golflengte 360 ±20 nm

6 PROCEDURE

6.1 MONSTERVERBEREIDING

Een monster wordt gehomogeniseerd door de fles grondig te schudden, ofwel door de fles op een schudtoestel (5.1.1) te brengen.

Uit voorkennis van een monster wordt indien nodig een verdunning gemaakt. Van een te verdunnen watermonster wordt aan de hand van wegwerppipetten (5.1.9) bediend door de pipetus (5.1.2) een verdunning uitgevoerd van een factor 10:

in een fles (5.1.10) gevuld met 225 ml steriele Ringer 1/40 (4.1.7) wordt 25 ml van de suspensie van de hoogste verdunning toegevoegd; vermenging met de hand of op een schudtoestel (5.1.1).

De procedure wordt achtereenvolgend uitgevoerd tot de gewenste verdunningen zijn bereikt.

De verdunningen van de monsters dienen dusdanig gekozen te worden dat het aantal te tellen kolonies op een membraan standaard tussen 10 en 100 ligt. De voorkeur wordt gegeven aan de

¹ Voor een verdunningsreeks van een watermonster aan ten maken mogen naast Ringer 1/4 of 1/40 alsook steriel leidingswater of andere geschikte diluenten worden gebruikt zoals vermeld in ISO 8199 (Water quality - General guide to the enumeration of micro-organisms by culture). De ISO lijst is niet beperkend.

verdunding met een resultaat in deze range. Aangezien *Pseudomonas aeruginosa* doorgaans grote kolonies vormen, zal in de praktijk de hoogste telbare waarde op een filter lager liggen.

6.2 ANALYSE VIA DE MEMBRAANFILTRATIE

De membraanfiltratie wordt uitgevoerd met een filtratietoestel met pomp (5.1.3). De steriele filtratiekokers worden of zijn voorzien van steriele 0,45µm membraanfilters (5.1.4).

Een volume van 250 ml of 100 ml monster wordt gefiltreerd.

De filters worden aan de hand van een steriele pincet (5.1.12) telkens aangebracht op een PCN agar of RAPID'*P.aeruginosa* agar (luchtbellen tussen membraan en bodem vermijden) (4.1.1), en geïncubeerd op $36 \pm 2^\circ\text{C}$ (5.1.5). Filters worden na 22 ± 2 uur afgelezen in geval van overgroei en de verder opkomende kolonies worden onderzocht na 44 ± 4 uur. De kolonies op het membraan worden geteld met behulp van een kolonietelapparaat (5.1.6).

- Blauwe tot blauwgroene kolonies op het chromogeen medium RAPID'*P.aeruginosa* agar worden als bevestigde *Pseudomonas aeruginosa* beschouwd.
- Pyocyanine producerende kolonies op PCN die een blauw-groene tot geel-groene kleur vertonen worden als bevestigde *Pseudomonas aeruginosa* beschouwd.
- Het membraan op PCN wordt onderzocht onder een ultraviolet lamp (5.1.14) van $360 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$ in een donkere kamer. De tijd dient beperkt te worden tot een minimum zodat de bacteriën niet worden afgedood en niet meer zouden groeien op de bevestigingsmedia. Alle niet-pyocyanine producerende fluorescerende kolonies worden geteld als presumptieve *Pseudomonas aeruginosa* en bevestigd in een acetamide bouillon (4.1.3).
- Alle andere roodbruine gepigmenteerde kolonies die niet fluoresceren worden als presumptieve *Pseudomonas aeruginosa* geteld en bevestigd met oxidase test (4.1.5), acetamide bouillon (4.1.3) en King's B (4.1.1).

De tellingen worden genoteerd; de hoogste telling in zijn totaliteit wordt

gerapporteerd. Overzicht van nodige bevestigingstesten van kolonies op PCN agar

Omschrijving van kolonie op PCN agar	Ammonium uit acetamide	Oxidase productie	Fluorescentie op King's B	Bevestigd als <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Blauw/groen	N G	N G	NG	Ja
Fluorescent (geen blauw/groen)	+	N G	NG	Ja
Roodbruin	+	+	+	Ja
Andere type kolonies	N G	N G	NG	N e e
NG: niet getest				

6.3 BEVESTIGINGSTESTEN VANUIT PCN

Nutriënt agar

Met een Entnaald met Pt-öse (5.1.13) alle of zoveel mogelijke (5-tal) kolonies strijken op nutriënt agar (4.1.4) die een bevestiging eisen, en gedurende 22 ± 2 uur bij $36 \pm 2^\circ\text{C}$ (5.1.5) incuberen. De subculturen op zuiverheid controleren.

De oorspronkelijke roodbruine kolonies aan een oxidasetest onderwerpen.

Oxidasetest

De oxidase test wordt uitgevoerd aan de hand van een oxidase reagens (4.1.5) volgens specificaties vermeld in de bijsluiter. Een oxidase positieve reactie wordt veroorzaakt door het enzyme cytochroom oxidase dat inwerkt op het N,N-dimethyl-p-fenyleendiamine, met de vorming van indofenolblauw. Het reagens wordt op een goed geïsoleerde kolonie van een nutriënt plaat getest en na een vastomschreven tijd afgelezen. Indien geen kleurverandering optreedt, leest men nog eens af na een langere tijdspanne.

Pseudomonas zijn oxidase positief en vormen een blauwe verkleuring. Als negatieve controle wordt bijvoorbeeld een *E.coli* cultuur (**Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**) getest.

King's B medium

De oxidase positieve roodbruine culturen enten in een King's B medium (4.1.1) en 24 uur (tot 5 dagen) incuberen bij $36 \pm 2^\circ\text{C}$ (5.1.5). De groei onder UV licht (5.1.14) bekijken en de aanwezigheid van fluorescentie noteren.

De reactie is positief wanneer fluorescentie binnen de 5 dagen voorkomt.

Acetamide bouillon

Een tube acetamide bouillon (4.1.3) inoculeren van een kolonie uit elke plaat nutriënt agar en gedurende 22 ± 2 uur bij $36 \pm 2^\circ\text{C}$ (5.1.5) incuberen. Aan de hand van een automatische pipet en wegwerptips (5.1.11) nadien 1 à 2 druppels Nessler reagens (4.1.6) toevoegen en de tubes op ammoniak vorming onderzoeken door het waarnemen van een kleuromslag variërend van geel tot siennarood afhankelijk van de concentratie.

Deze reeks bevestigingstesten kunnen door een commerciële identificatiekit voor *Pseudomonas spp.* vervangen worden.

6.4 IDENTIFICATIE VAN PSEUDOMONAS AERUGINOSA DOOR MIDDEL VAN MALDI-TOF MS (MATRIX- ASSISTED LASER DESORPTION-IONIZATION TIME-OF-FLIGHT MASS SPECTROMETRY)

Voor de identificatie van *Pseudomonas aeruginosa* of ter vervanging van de bevestigingstesten kan gebruik gemaakt worden van de MALDI-TOF MS technologie. Hiervoor dient wel een validatie uitgewerkt te worden conform ISO 16140.

6.5 TELLING

Vanuit PCN:

Al de bevestigde *Pseudomonas aeruginosa* kolonies tellen die pyocyanine produceren (blauw/groen pigment) of die een oxidase positief zijn en fluoresceren onder UV licht en in staat zijn om ammoniak te produceren uit acetamide.

Opmerking: kolonies die fluoresceren op het oorspronkelijk PCN membraan zijn steeds oxidase positief en dienen dus hiervoor niet te worden getest.

Indien geen blauw/groene kolonies of geen positief bevestigde kolonies aanwezig zijn, zijn geen *Pseudomonas aeruginosa* in het monster aanwezig.

Vanuit het chromogeen medium:

Alle blauwe tot blauwgroene kolonies op het chromogeen medium RAPID'*P.aeruginosa* agar.

7 RAPPORTERING

- De kve *Pseudomonas aeruginosa* waarden per 250 ml (mineraal water, flessenwater, bronwater) of per 100 ml watermonster bepalen, rekening houdend met de verhouding uitgevoerde bevestigingstesten.
- Bij verdunningen wordt het aantal getelde *Pseudomonas aeruginosa* (waarde tussen 10-100 kolonies) vermenigvuldigd met de overeenstemmende verdunningsfactor.
- Indien geen kolonies aanwezig zijn op platen geïncubeerd met een onverdund monster, wordt het resultaat als <1 kve / 100 of 250 ml of als 0 kve / 100 of 250 ml vermeld.
- Indien meer dan 100 kolonies op de geïnoculeerde schalen met de grootste verdunning 10^{-x} voorkomen, wordt het resultaat als benaderend vermeld (geschat aantal $>100 \cdot 10^x$ kve/gefilt. volume).

7.1 RAPPORT

Vermelding in het rapport van:

- de identificatie van het monster, en alle gegevens over de monstername
- de verwijzing naar de betreffende WAC-methode
- het resultaat
- bijzondere opmerkingen

8 REFERENTIES

- ISO 16266 (2006) Water quality -- Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* -- Method by membrane filtration.
- **NF** validatierapport voor RAPID'*P.aeruginosa* agar (attest n° BRD 07/21-04/12)

The analysis method:

RAPID'*P. aeruginosa* Agar

Validated for the enumeration of *Pseudomonas aeruginosa*

Manufactured by:

BIO-RAD
Route de Cassel
59114 Steenvoorde - France

Has been certified according to the reference documents and the application scope specified here after:

Validation protocol	NF VALIDATION - Validation of analysis methods: Application to water microbiology. Validation protocol for an alternative commercial method as compared with a reference method. Revision 2 (May 2013).
Reference method(s)	NF EN ISO 16266 (August 2008): Water quality. Detection and enumeration of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - Method by membrane filtration.
Scope	Waters for human consumption (bottled waters (250 ml), wells, springs and boreholes, tap waters and drinking fountain waters (100ml)) and recreational waters (pool waters, thermal waters (100ml)).
Restriction(s)	None.
Warning	None.
Other information(s)	Non applicable.

- ISO 8199:2018 Water quality - General requirements and guidance for microbiological examinations by culture.
- ISO 19458 (2006) Water quality - sampling - General guide for sampling, transport, preservation and handling of samples for microbiological analysis.
- EN 12780 (05/2002) Water quality - Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* by membrane filtration.
- WAC/I/A/010 Conservering en behandeling van watermonsters
- WAC/VI/A/003 Kwaliteitseisen voor de analysemethoden
- MALDI-TOF MS

http://www.afsca.be/laboratories/labinfo/documents/2015-04_labinfo13-p12_en.pdf

Pavlovic, Melanie, et al. "Application of MALDI-TOF MS for the identification of food borne bacteria." The open microbiology journal 7 (2013): 135.

Ecotoxiciteitstest met vissen: acute toxiciteit voor zebravisembryo (*Danio rerio*)

INHOUD

1	Toepassingsgebied	4
2	Keuze van testorganisme	4
3	Principe van de vistest	5
3.1	<i>Eindpunten voor acute toxiciteit bij vissen</i>	5
3.2	<i>Limiettest</i>	5
3.3	<i>Verdunningsreeks</i>	5
4	Definities	6
5	Acute toxiciteit voor het zebravisembryo, <i>Danio rerio</i>	6
5.1	<i>Inleiding</i>	6
5.2	<i>Apparatuur en materiaal</i>	7
5.3	<i>Reagentia en oplossingen</i>	7
5.4	<i>Watermonster</i>	8
5.5	<i>Werkwijze</i>	8
5.5.1	Controle medium of verdunningswater, ook viswater	8
5.5.2	Testorganismen	9
5.5.3	Testoplossingen van het watermonster	10
5.5.4	Blootstelling van zebraviseitjes	10
5.5.6	Berekening van resultaat voor acute toxiciteit na 96 u	13
5.5.7	Kwaliteitscontrole	13
5.5.8	Rapportering	14
6	Referenties	15
BIJLAGE A : Bereiding van controle- en verdunningsmedium voor zebravisembryo test.		16
BIJLAGE B : Bereiding van de stockoplossing en testoplossing van referentiestof 3,4-dichloroaniline.		17
BIJLAGE C : Voorstel van werkwijze voor het opzetten van broedkoppels van zebravis voor de productie van eitjes		18
C.1	<i>Broedvissen, <i>Danio rerio</i></i>	18
C.2	<i>Opzetten van kweekbakjes</i>	18
C.3	<i>Vorbereidingen voor het verzamelen van de eitjes 's morgens bij eileg</i>	18
C.4	<i>Verzamelen van de eitjes</i>	19

BIJLAGE D : Fotomateriaal ter illustratie van ontwikkelingsfase en effecten op zebraviseitjes & -larven	20
<i>D.1 Evaluatie van eitjes op dag 0</i>	<i>20</i>
<i>D.2 Evaluatie van synchrone ontwikkelingsstadia in 1^{ste} uren na bevruchting</i>	<i>21</i>
<i>D.3 Evaluatie van 4 eindpunten voor acute toxiciteit op 96 u</i>	<i>22</i>

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de werkwijze om de acute toxiciteit voor vissen met het zebravisembryo als testorganisme te bepalen. ~~en ze maakt deel uit van het erkenningspakket “W.9.2.2, acute toxiciteit voor vissen”.~~ Vissen vertegenwoordigen een belangrijk trofisch niveau, als primaire of secundaire consumenten in het aquatisch ecosysteem.

De procedure is van toepassing voor

- Diverse waterige milieumatrices: afval-, oppervlakte-, drink- en grondwater.
- Waterige oplossingen met chemische stoffen, mits deze in oplossing zijn als stabiele suspensie of via dispersie.

De test ‘acute toxiciteit voor vissen’ wordt standaard uitgevoerd met het zebravisembryo, *Danio rerio*.

Om tegemoet te komen aan de Europese wetgeving op proefdierexperimenten (Richtlijn 2010/63/EU en Uitvoeringsbesluit 2012/707/EU), de Dierenwelzijnswet en het KB van 29 mei 2013 moet steeds waar mogelijk een alternatieve test worden uitgevoerd, om het gebruik van vissen als proefdier te beperken. Er is voor vissen de alternatieve test met zebravisembryo 's, waarbij het embryo gebruikt vóór de 5^{de} dag na bevruchting of voor de leeftijd van 120 u, niet als proefdier wordt beschouwd (Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU).

Enkel in uitzonderlijke gevallen, zoals hierna vermeld voor waters met hoge geleidbaarheid vanwege zouten, met mogelijk schadelijke effecten voor een zoetwaterorganisme (bv. toxiciteit door osmotische stress) wordt de test met zebravisembryo niet gebruikt. De acute toxiciteit door milieugevaarlijke stoffen kan beïnvloed of gemaskeerd worden door effecten van het zout. Om die reden worden er voor een testorganisme zogenaamde ‘randvoorwaarden’ voor de fysicochemische parameter geleidbaarheid ~~gedefinieerd. Geleidbaarheid is een goede maat voor de totale activiteit van zoutionen, waarvan chloriden en sulfaten de belangrijkste zijn,~~ ~~gedefinieerd.~~ Indien de fysicochemische parameter voor geleidbaarheid voor het zebravisembryo overschreden is, zowel bij het onverdunde watermonster (100%), alsook bij het 1:1 verdunde watermonster (50%), dan zal men voor de vistest met de juveniele regenboogforel, *Oncorhynchus mykiss* als testorganisme kiezen. Bovendien kan de acute toxiciteit met forel enkel aangewend worden mits het labo een erkenning heeft voor het gebruik van proefdieren en een goedkeuring voor proefdierexperimenten bekomen werd bij een ethische commissie. Er wordt verwezen naar een andere WAC-procedure WAC/V/B/007: “Ecotoxiciteitstest met vissen: acute toxiciteit voor de regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*)”. ~~die onder hetzelfde erkenningspakket W.9.2.2 valt.~~ Deze species heeft een bredere tolerantiegrens voor zouten.

2 KEUZE VAN TESTORGANISME

Voor de juiste keuze van het testorganisme is meting van geleidbaarheid⁴ in het water vereist. Meting van de geleidbaarheid wordt getoetst aan de randvoorwaarden voor zebravisembryo (Tabel 1, Postma et al., 2002). Bij een overschrijding van de geleidbaarheid zowel bij het onverdunde water, als bij een 1:1 verdunning of 50% watermonster dan moet gekozen worden voor de juveniele forel als testorganisme (zie WAC/V/B/007).

⁴~~Bijkomende criteria als concentratie van chloriden en sulfaten maken deel uit van lopend onderzoek en worden momenteel nog niet gehanteerd bij keuze testorganisme.~~

De meetresultaten van geleidbaarheid worden gedateerd en gerapporteerd, ter motivatie voor de keuze van het testorganisme, en in geval van de zebravisembryo test eveneens ter bepaling van de hoogste testconcentratie van het water (100% of 50%).

Tabel 1: Randvoorwaarde geleidbaarheid bij 100% of 50% water voor het zebravisembryo

Parameter	Geleidbaarheid ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Zebravisembryo, <i>Danio rerio</i>	< 700 0

3 PRINCIPE VAN DE VISTEST

3.1 EINDPUNTEN VOOR ACUTE TOXICITEIT BIJ VISSEN

In de test met zebravisembryo worden 4 eindpunten gemeten (coagulatie ei/sterfte larve; ontbreken van normale ontwikkeling somieten, ontbreken hartslag & ontbreken staartloslating), als maat voor acute toxiciteit na blootstelling gedurende (96 ± 2) u of 4 dagen aan het watermonster in vergelijking met het controle medium. Het is voldoende om enkel op 96 u blootstelling de evaluatie van 4 eindpunten te doen. Het % effect wordt berekend door het aantal organismen in de testgroep te tellen waarvoor minstens één (of meer) van de eindpunten gescoord werd ten opzichte van het aantal gezonde organismen bij start van de test.

De acute toxiciteitstest op juveniele vissen berust op het meten van de sterfte van vissen, als maat voor acute toxiciteit na blootstelling gedurende (96 ± 2) u of 4 dagen aan het watermonster in vergelijking met het controle medium. De sterfte wordt dagelijks gecontroleerd, en het cumulatief aantal dode vissen op 96 u wordt berekend als % effect in de testgroep t.o.v. het aantal levende vissen bij aanvang van de test (zie WAC/V/B/007).

3.2 LIMIETTEST

Voor het meten van de toxiciteit van waters wordt standaard een limiettest uitgevoerd op onverdund water (100%), of 50% indien de randvoorwaarde voor geleidbaarheid overschreden is voor het zebravisembryo. Het % effect na 96 u blootstelling aan de hoogst geteste concentratie van het water (100% of 50%) wordt gerapporteerd, en dit telkens in vergelijking met het % effect bij blootstelling aan controle medium.

3.3 VERDUNNINGSREEKS

Uitzonderlijk worden de testen uitgevoerd op een verdunningsreeks van het watermonster. Dit kan van toepassing zijn wanneer dit vereist is in het kader van de bijzondere voorwaarde in een vergunning of bij verder onderzoek naar oorzaken van acute toxiciteit (TIE-Toxiciteit identificatie & evaluatie). Voor de zebravisembryo test kan ook bij het testen van een referentiestof, als deel van kwaliteitscontrole, een verdunningsreeks opgezet worden.

Het watermonster (of de referentiestof) wordt in een reeks van minstens 5 concentraties getest, bijvoorbeeld 100%, 50%, 25%, 12.5% en 6.25%, naast de controle conditie op basis van een verdunningsfactor 2, die groter kan zijn naargelang de beoogde concentratierange. De concentratiereeks van het watermonster of de referentiestof wordt zodanig gekozen dat de hoogste concentratie ongeveer 100% effect oplevert, en de laagste concentratie 0% effect (of niet significant

verschillend van de controle). Dit laat toe een grafiek met concentratie-effect voor acute toxiciteit voor zebravisembryo te genereren, alsook een EC_{50} -waarde te berekenen die de concentratie van het water of referentiestof geeft waarbij 50% van de testorganismen acute toxiciteit ondervinden. Bij deze test met een verdunningsreeks kan eveneens het % effect, zoals in de limiettest, bepaald worden voor het onverdunde water of de hoogste testconcentratie van de reeks.

Indien een verdunningsreeks van een watermonster moet opgezet worden met de juveniele forel, dan moet een aangepaste werkwijze gevolgd worden door trapsgewijs te testen om het gebruik van aantal proefdieren en het lijden te beperken, en mits goedkeuring van de ethische commissie (voor meer details verwijzen we naar de overeenkomstige procedure WAC/V/B/007).

4 DEFINITIES

Volgende definities zijn van toepassing:

- EC_{50} (50 % effectconcentratie): dit is de concentratie van het water of een referentiestof waarbij 50% van de testorganismen in een testgroep een effect ondervinden na een bepaalde blootstellingsperiode. Indien het effect letaliteit (sterfte) is, dan wordt dit een LC_{50} .
- Letaliteit: een vis of larve wordt als dood beschouwd indien geen actief zwemgedrag, of aanraking van de staartwortel geen reactie teweegbrengt en er geen ademhalingsbewegingen zichtbaar zijn.
- LC_{50} (50 % letale concentratie): dit is de concentratie waarbij 50% van de vissen in een testgroep sterft binnen de vooraf bepaalde blootstellingsperiode.
- Limiettest: in de test wordt 1 concentratie van het water (nl. de hoogste concentratie 100% of het onverdunde water) geëvalueerd in vergelijking met controle medium.
- Randvoorwaarden: voor het testmonster geldende grenzen voor fysicochemische parameters, zoals pH, O_2 , geleidbaarheid... waarbij er geen effect op (acute) toxiciteit wordt verwacht ten opzichte van de controle conditie.
- Referentiestof: een referentiestof kan worden getest om aan te tonen dat de gevoeligheid van de geteste soort onder laboratoriumomstandigheden niet in belangrijke mate veranderd is en/of de uitvoering van de test voldoet aan vooropgestelde criteria qua te verwachten toxische effecten voor de referentiestof (ook positieve controle).
- Toxiciteit identificatie en evaluatie (TIE): onderzoek naar de oorzaken van toxiciteit door watermonsters te onderwerpen aan diverse behandelingen (filtratie, actieve kool, organische extractie.) met het doel de toxiciteit toe te wijzen aan bepaalde fracties uit deze behandelingsstappen.

5 ACUTE TOXICITEIT VOOR HET ZEBRAVISEMBRYO, DANIO RERIO

5.1 INLEIDING

De uitvoering van de acute toxiciteit met zebravisembryo voor watermonsters in deze WAC-procedure is gebaseerd op 2 internationale richtlijnen, nl. ISO 15088 (2007) en OECD 236 (2013).

Deze test wordt uitgevoerd met vroege ontwikkelingsstadia van zebravis tot de leeftijd van 4 dagen, en is niet onderworpen aan de proefdierwetgeving.

Om met deze testorganismen te werken zijn er 2 mogelijkheden:

1. Men houdt broedkoppels (volwassen mannelijke en vrouwelijke zebravissen) in het labo om op regelmatige tijdstippen in functie van de uit te voeren testen, bevruchte zebraviseitjes te

verzamelen. Men dient zich hiervoor in regel te stellen met de wetgeving dierenwelzijn (zie <https://dierenwelzijn.vlaanderen.be/wetgeving-dierenwelzijn>).

2. Men neemt contact met een erkend proefdierlaboratorium waar men een kweek heeft van wild-type zebravissen. Mits de nodige afspraken qua timing en levering van goede kwaliteit bevruchte zebraviseitjes mogen deze extern aangekocht worden.

Meer toelichting in de sectie over testorganismen (zie 5.5.2).

5.2 APPARATUUR EN MATERIAAL

- Zuurstofmeter voor bepaling conform WAC/III/A/008
- Thermometer en/of logger voor registratie van min. en max. temperatuur
- pH-meter voor pH meting conform WAC/III/A/005
- Geleidbaarheidsmeter voor meting geleidbaarheid conform WAC/III/A/004
- ~~Materiaal en apparatuur voor de bepaling van chloriden en sulfaten conform WAC-procedure WAC/III/C~~
- Materiaal en apparatuur voor de bepaling van ammonium
- Analytische balans, aflezing tot 0.1 mg
- Klimaatkamer of incubator met instelbare temperatuur en lichtcyclus
- Beluchting systeem (olie-vrij)
- Pipetten en toebehoren
- Standaard labo glasmateriaal: maatkolven, maatcilinders voor bereiding van testoplossingen en verdunningen.
- Receptiënten voor meting van fysicochemische parameters.
- Grote petriplaat (15 cm ϕ) met deksel voor het verzamelen en spoelen van eitjes
- Multiwell testplaten met deksel (polystyreen): 6-well & 24-well
- Luchtdoorlatende folie om well platen af te dekken
- Glazen pasteurpipet met afgeslepen punt en opening voldoende voor transfer van zebraviseitjes
- Stereomicroscop
- Omgekeerde lichtmicroscop (tot 80x)
- Inox zeef met een maasgrootte (bv 300 μ m) waar eitjes niet door vallen
- Kweekopstelling voor levende Artemia (eventueel) en/of ander (levend) voer voor broedkoppels
- Kweekbakjes met deksel, en met tussenschot voor broedkoppels zebravis, en materiaal (kunststofplanten) voor verrijking en beperking van stress voor mannelijke vissen

5.3 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- Oplossing methyleenblauw (stockoplossing methyleenblauw 2 % en werkoplossing 0.0002 %),
- Gedemineraliseerd water (< 10 μ S/cm).
- HCl, 0.1N en NaOH, 0.1N
- Zouten, calciumchloride, magnesiumsulfaat, natriumbicarbonaat en kaliumchloride van analytische kwaliteit (zie BIJLAGE A) voor de bereiding van controle medium en verdunningsmedium (ook viswater).
- 3,4 Dichloroaniline (DCA), analytische kwaliteit (referentiestof, zie 5.5.7, Kwaliteitscontrole). Instructies voor bereiding van de stockoplossing zijn te vinden in BIJLAGE B.
- Verdovingsmiddel voor euthanasie van embryo's.

5.4 WATERMONSTER

Voor de monsternamen en houdbaarheid wordt verwezen naar respectievelijk WAC/I/A/003, WAC/I/A/004 en WAC/I/A/010.

Bij gebruik voor fysicochemische metingen om de randvoorwaarden te controleren wordt een gehomogeniseerd en representatief deelstaal genomen van het watermonster, en op kamertemperatuur gezet.

Naast de meting van geleidbaarheid bij keuze van testorganisme (zie **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**) wordt eveneens pH, zuurstof, ~~chloriden, sulfaten~~ en ammonium gemeten en gerapporteerd. Voor de meeste van deze parameters zijn er aanvaardbare ranges gedefinieerd waarbij er geen effect verschillend van controle ($\leq 10\%$) in de vorm van acute toxiciteit voor het embryo zou optreden (**Tabel 2**, Postma et al. 2002).

Tabel 2: Randvoorwaarde voor fysicochemische parameters in watermonsters voor zebravisembryo.

Parameter	pH	Zuurstof (mg/l)	Geleidbaarheid ($\mu\text{S/cm}$)	Chloride n (mg/l)	Sulfate n (mg/l)	Ammonium (mg/l NH_4^+ bij pH8) ²
Zebravisembryo, <i>Danio rerio</i>	6.5 – 9.0	≥ 5	< 7000	< 2000	g.d.	< 18.0

g.d. geen data

Indien de pH van het watermonster buiten de toegelaten range valt (< 6.5 of > 9), dan wordt meteen de pH aangepast met zuur of base tot een pH- overeenkomstig die van het controle medium ± 0.1 . Enkel en alleen indien het zuurstofgehalte lager is dan 5.0 mg/l, dan wordt het watermonster gedurende 20 min., net voor aanvang van de test, belucht. De aanpassingen voor pH en zuurstof worden gerapporteerd.

De meting van ~~chloriden, sulfaten en~~ ammonium wordt gerapporteerd. In geval van afwijkende randvoorwaarde voor ammonium ~~en chloriden~~ wordt er niet gecorrigeerd, en wordt overschrijding van randvoorwaarde duidelijk vermeld in het rapport, als mogelijke parameter die bijdraagt tot gemeten toxiciteit, naast deze die te wijten zou zijn aan milieugevaarlijke stoffen.

In overleg met de opdrachtgever kan bij afwijking van ammonium alsnog een nieuwe test worden uitgevoerd door aanpassingen te doen aan het water (bijv. beluchten om ammonium te strippen, of bufferen voor pH om ammonium effect uit te sluiten) gevolgd door meting van ammonium. Dergelijke aanpassingen aan het watermonster moeten gerapporteerd worden als een afwijking op de methode.

5.5 WERKWIJZE

5.5.1 CONTROLE MEDIUM OF VERDUNNINGSWATER, OOK VISWATER

Voor de zebravisembryo test wordt er met gereconstitueerd medium gewerkt, vertrekkende van 4 zouten om controle medium of verdunningswater, ook viswater genoemd, te bereiden. De samenstelling is deze zoals voorgeschreven in ISO 7346-1 (**Tabel 3**). Een werkwijze voor de bereiding van stockoplossingen (40x), en verdunning tot controle medium of viswater wordt gegeven in BIJLAGE A.

² Randvoorwaarde ammonium bij pH > 8 kan lager zijn vanwege hogere toxiciteit, maar data ontbreken.

Het controle medium of viswater wordt op kamertemperatuur gebracht en belucht voor gebruik in de testen.

Tabel 3: Samenstelling van controle en verdunningsmedium (viswater) in de zebravisembryo test

Zout	Concentratie (mg/l)
NaHCO ₃	63
CaCl ₂ ·2H ₂ O	294
MgSO ₄ ·7H ₂ O	123.3
KCl	5.5

5.5.2 TESTORGANISMEN

5.5.2.1 HERKOMST

De acute toxiciteit voor de zebravisembryo test maakt gebruik van pas bevruchte eitjes, die verkregen worden van broedkoppels zebravis, *Danio rerio* van het wild-type. Het labo neemt de nodige maatregelen om in regel te zijn met de wetgeving dierenwelzijn.

Om op regelmatige tijdstippen in eitjes te voorzien is het aangewezen om een stock van broedkoppels van geslachtsrijpe zebravissen (leeftijd ≥ 3 mnd. - max. 24 mnd.) in het labo te houden.

De vissen worden aangekocht bij een erkende proefdierfaciliteit en worden in het labo onder optimale condities gehouden in goede gezondheid. Broedkoppels gebruikt voor eiproductie mogen voorgaande 2 maanden niet behandeld zijn voor ziektes. De broedvissen worden op water van goede kwaliteit gehouden (voor details zie OECD 236 richtlijn: annex 2). Ze worden aan een dichtheid van maximaal 1 vis per liter water geplaatst bij een constante fotoperiode (duur lichtperiode tussen 12 en 16 u), en watertemperatuur (26 ± 2)°C. Parameters voor waterkwaliteit en gezondheidsconditie van de vissen worden op dagelijks geregistreerd en bijgehouden in een logboek.

Een werkwijze voor het opzetten van broedkoppels van zebravis om eitjes van goede kwaliteit te bekomen wordt beschreven in BIJLAGE C.

Het alternatief is om viseitjes van goede kwaliteit aan te kopen bij een erkende proefdierfaciliteit, en beschikbaarheid zodanig in te plannen dat de start van de blootstelling van de eitjes kan plaatsvinden binnen 2 u na bevruchting. De herkomst en gegevens van de levering moeten traceerbaar zijn.

In het rapport wordt de herkomst van testorganismen, hetzij de broedvissen, hetzij de viseitjes steeds beschreven.

5.5.2.2 EVALUATIE EN SELECTIE VAN BEVRUCHTE VISEITJES ('S MORGENS NA AFLEGGEN)

- Broedkoppels worden opgezet volgens de procedure beschreven in BIJLAGE C, op de dag voor start van blootstelling van de eitjes. Het aantal op te zetten kweekbakjes wordt berekend i.f.v. het aantal testcondities, waarbij ruim geschat 20 eitjes per conditie moeten voorzien worden om vervolgens 12 bevruchte eitjes van goede kwaliteit te weerhouden voor de test.
- Na het verzamelen en spoelen van de eitjes (zie C.4 in BIJLAGE C) wordt eerst een snelle evaluatie uitgevoerd om zeker te zijn dat
 - De geproduceerde batch eitjes van goede kwaliteit is en dat het merendeel van de eitjes bevrucht is. Niet bevruchte eitjes zijn niet transparant en hebben een wit, melkachtig uitzicht. Soms kunnen bevruchte eitjes snel afsterven, en niet verder delen en tonen ze een vlokvormige witgrijze massa door degeneratie van eiwitten (zie ook afbeeldingen D.1 in BIJLAGE D). Om de batch eitjes te accepteren voor een test moeten er minstens 70% gezonde, normaal ontwikkelde en bevruchte eitjes zijn om de test te starten.

- o De verzamelde eitjes in vergelijkbare ontwikkelingsstadia verkeren, namelijk 2- tot 4-cellig stadium en dus ongeveer een synchroon verloop van ontwikkeling kennen (zie afbeeldingen D.2 in BIJLAGE D). Dit kan in de hand gewerkt worden door kweekbakjes met tussenschotten te gebruiken, waarbij pas 's morgens net voor het afleggen van de eitjes de mannetjes in contact komen met de vrouwtjes door het wegnemen van het tussenschot.

Na de eerste evaluatie en goedkeuren van de batch eitjes (criterium 70% gezonde, bevruchte eitjes) kan de blootstelling aan testcondities starten. De eitjes van verschillende kweekbakjes worden gepoold in grote petriplaten, om hieruit een random selectie te doen voor de blootstelling.

5.5.3 TESTOPLOSSINGEN VAN HET WATERMONSTER

Het water wordt op kamertemperatuur gebracht, en goed gehomogeniseerd door schudden voor gebruik. De testoplossingen met watermonsters worden vers bereid tot maximum 4 uur voor aanvang van de test.

Van elke testoplossing wordt 100 ml gemaakt, waarvan 8 ml transferoplossing voor de 6-well plaat, 2 ml/well/organisme X 12 organismen voor de 24 well plaat. Er is dan voldoende van de testoplossing met de hoogste concentratie om ook fysicochemische metingen uit te voeren, in parallel met de controle conditie zowel bij de limiettest als bij een verdunningsreeks. Een afzonderlijk recipiënt voor de controle en hoogste testconcentratie wordt geïncubeerd tijdens de blootstelling voor de fysicochemische metingen op einde van de test.

5.5.3.1 LIMIETTEST VOOR % EFFECT

Het water wordt standaard in een limiettest geëvalueerd als onverdund water (hoogste testconcentratie of 100% water), of 1:1 verdund water (50%) bij overschrijding van geleidbaarheid voor zebrafisembryo (zie **Tabel 1**), en dit in vergelijking met een controle conditie (100% verdunningswater of viswater).

5.5.3.2 TEST MET EEN VERDUNNINGSREEKS VOOR EC₅₀ BEPALING

Indien van toepassing (bijv. volgens bijzondere voorwaarde in vergunning van het bedrijf) moet het water in een verdunningsreeks getest worden om een EC₅₀ waarde te bepalen. Hiervoor wordt het watermonster verdund met verdunningswater (zie 5.5.1), voor minstens 5 concentraties met bijv. een verdunningsfactor 2, namelijk 100%, 50%, 25%, 12.5% en 6.25% van het water in vergelijking met controle (0% watermonster in verdunningswater).

Uitzonderlijk is een range finding test nodig, bijv. indien zeer hoge toxiciteit verwacht wordt. Hierbij wordt een verdunningsreeks opgezet met hoge verdunningsfactor, bijv. 10 om de 0-100% effectrange te vinden. Uit deze test kan de verfijnde testrange (met lagere verdunningsfactor, minimum 2) afgeleid worden met concentraties van water waarbij minstens 1 punt met 100% effect en een punt met een effect $\leq 10\%$, en met indien mogelijk meerdere punten op de helling van de concentratie-effect curve om een nauwkeurige EC₅₀ waarde te berekenen. Indien er weinig tot geen effect is (< 50% acute toxiciteit), kan er geen EC₅₀ waarde bepaald worden.

5.5.4 BLOOTSTELLING VAN ZEBRAVISEITJES

5.5.4.1 BLOOTSTELLINGSCONDITIES

- Duur: (96 $\pm$ 2) u
- Licht-donker cyclus: 16 u licht/8 u donker.
- Temperatuur van testoplossingen: (26 $\pm$ 1)°C tijdens blootstelling, een temperatuur-gecontroleerde kamer of incubator te gebruiken voor de test. Via een temperatuurlogger in een

testbeker (10 ml test vloeistof) naast de multiwell platen wordt de temperatuur opgevolgd gedurende de blootstellingsperiode. Gedurende de test mag het temperatuurverschil niet meer dan 2°C bedragen.

- Testrecipiënt: 24-well plaat, polystyreen. De 24-well plaat wordt afgedekt met luchtdoorlaatbare folie, en het deksel.
- Test volume: 2 ml per well, 1 eitje/well.
- Replica's: 12 bevruchte eitjes per testconditie, zowel voor watermonster als voor controle medium (viswater).
- Deze condities zijn dezelfde bij de limiettest en test met verdunningsreeks.

5.5.4.2 TRANSFER VAN EITJES NAAR TESTOPLOSSINGEN IN EEN 6-WELL PLAAT BINNEN 2U NA BEVRUCHTING

- De blootstelling van eitjes aan testcondities moet zo snel mogelijk gebeuren en volledig afgerond zijn binnen 2 uur na bevruchting. Men noteert het tijdstip van start van de blootstelling in de 6-well plaat op het laboformulier.
- Een 6-well plaat wordt gevuld met voor elke testconditie, 8 ml/well. Deze plaat werd in de incubator of temperatuur gecontroleerde kamer geplaatst, voor het verzamelen van de eitjes, zodat testoplossingen op 26°C komen.
- In de 1^{ste} fase worden met behulp van een omgekeerde microscoop de bevruchte eitjes, zoals weerhouden bij evaluatie en selectie van het legsel (zie 5.5.2.2) per conditie in een well van een 6-well plaat gebracht met een pipet met brede punt. Men zorgt ervoor om, bij de transfer van eitjes uit de grote petriplaat met viswater, zo weinig mogelijk vloeistof met de eitjes over te brengen naar de 6-well plaat om verdunning van de testoplossing van het watermonster te vermijden.
- In elke well worden, at random, per testconditie minimum 15 (tot 20) goede eitjes geplaatst.
- De 6-well platen worden op temperatuur gezet (26°C ± 1)°C in een licht-donker gecontroleerde en gethermostatiseerde ruimte.

5.5.4.3 TRANSFER VAN BEVRUCHTE EITJES NAAR 24-WELL TESTRECIPIËNT

- Er werden 24-well platen gereed gemaakt, en per testconditie werden 12 wells/plaat gevuld met elk 2 ml van testoplossing of controle medium en vervolgens op temperatuur geplaatst in de voormiddag.
- In de namiddag, in 2^{de} fase ~6 à 7 u na bevruchting controleert men de eitjes in de 6-well platen als extra controle voor succesvolle bevruchting en ontwikkeling, en/of eventueel acute sterfte bij hoogste concentratie van testoplossing is opgetreden. Het aantal niet-bevruchte/dode eitjes wordt genoteerd op het totaal aantal (= indicatie van vroege toxiciteit) voor de 6-wells. In de controle conditie zou er, mits goede selectie in fase 1, geen dood of niet-bevrucht eitje mogen voorkomen.
- Vanuit elke well worden per testconditie, enkel de bevruchte eitjes en normaal ontwikkelde eitjes individueel overgezet naar een reeks van 12 wells/conditie op de 24-well plaat. Men zorgt ervoor om zo weinig mogelijk extra testvolume mee te pipetteren.
- Indien er bij blootstelling aan een testoplossing van watermonster reeds duidelijke toxiciteit is opgetreden in de 6-well, dan zal men zo goed mogelijk een representatieve selectie maken om alsnog in totaal 12 eitjes over te zetten naar de testoplossing in de 24-well plaat.
- Controleer de 24-well plaat of er in elke well één eitje x 12, per testconditie aanwezig is.
- De 24-well plaat wordt afgedekt met folie en het deksel, en in de gethermostatiseerde ruimte geplaatst bij 16 u licht/8 u donker.
- De temperatuur in de wellplaten moet gedurende de test steeds (26 ± 1)°C zijn. Men plaatst daarom naast de well platen, een kleine beker viswater, afgedekt met folie met daarin een sensor voor registratie van min. en max. temperatuur tijdens de 96 u blootstelling.

- De pH, geleidbaarheid, en zuurstofconcentratie in resterende controle en testoplossing(en) worden gemeten en genoteerd bij het begin van de test. Uitsluitend in het controle medium en in de hoogste testconcentratie, zowel voor de limiettest als van een verdunningsreeks moet er gemeten worden.
- Men plaatst van het controle medium en de hoogste concentratie van te testen watermonster (zowel bij limiettest, als verdunningsreeks) een kleine beker met testoplossing in de incubator, afgedekt met folie, naast de 24-well platen tijdens de volledige periode van blootstelling. Deze beker zal gebruikt worden voor fysicochemische metingen op einde van de test.

5.5.5 EVALUATIE VAN TEST OP 96 u

- De evaluatie is enkel vereist op (96 ± 2) u blootstelling vereist, en dit zowel in de limiettest als de test met verdunningsreeks.
- Voor beoordeling van acute toxiciteit worden 4 biologische eindpunten geëvalueerd die in Tabel 4 opgesomd zijn en hieronder verduidelijkt (zie ook de illustraties D.3 in BIJLAGE D). Indien minstens één van deze 4 eindpunten voor een embryo positief scoort dan wordt dit als lethaal (= effect voor acute toxiciteit zebravisembryo) beschouwd.

Tabel 4: Eindpunten voor evaluatie zebravisembryo na (96 ± 2) u blootstelling

Eindpunt	96 u
Coagulatie/sterfte van ei/larve	X
Ontbreken van somiet vorming	X
Niet loslaten staart	X
Ontbreken van hartslag	X

- o *Coagulatie van ei*: dode zebravis eitjes worden herkend door hun melkachtig (niet-transparant) en later donker uitzicht, een gevolg van neerslag van eiwitten en goed zichtbaar bij microscopische evaluatie.
- o *Ontbreken van somieten*: er worden 20 somieten gevormd, belangrijk voor spontane contracties in een normaal ontwikkeld embryo vanaf 24 u, maar zeker goed zichtbaar op 48 u en later. Ontbreken of onvolledige vorming van somieten kan duiden op een vertraagde ontwikkeling of volledige morfologische afwijking, en wordt gebruikt als eindpunt voor acute toxiciteit.
- o *Niet-staartloslating*: bij een normale ontwikkeling zal de staart loskomen van de dooierzak bij groei van het embryo, en dit is zichtbaar vanaf 24u ontwikkeling. Het ontbreken van staartloslating bij zebravisembryo wordt gehanteerd als 1 van de 4 eindpunten voor acute toxiciteit op 96 u.
- o *Ontbreken van hartslag*: in een normaal ontwikkeld zebravisembryo gehouden bij $\sim 26^{\circ}\text{C}$, is hartslag duidelijk vanaf 48 u. Het volledig ontbreken van hartslag bij evaluatie op vergroting 80X en gedurende 1 min. observatie geldt als eindpunt voor acute toxiciteit. Onregelmatige of vertraagde hartslag, of ontbreken van bloedcirculatie wordt niet gescoord als eindpunt voor acute toxiciteit.
- Naast de 4 eindpunten als indicator voor acute toxiciteit wordt eveneens gescoord voor andere opvallende observaties: bijv. 1) niet ontluiken ('no hatching'), hetgeen normaal zou gebeuren tussen 72 en 96 u, 2) oedeemvorming of 3) andere afwijkingen. Geen enkele van deze bijkomende observaties zal gebruikt bij de beoordeling voor acute effecten.

- Voor elk individu in de 24-well platen wordt gescoord en geregistreerd op formulieren, zodat % effect in de groep van 12 individuen/testconditie kan berekend worden.
- De temperatuurregistraties tijdens het verloop van de test worden nagekeken, terwijl minimum- en maximumtemperatuur voor de volledige duur van de test gerapporteerd worden.
- Fysicochemische parameters, nl. zuurstof en pH worden gemeten en geregistreerd in de afzonderlijke beker bij incubatie, en dit is enkel nodig in het controle medium en in de hoogste testconcentratie, zowel voor de limiettest als bij de test van een verdunningsreeks.
- De test wordt beëindigd: de zebravisembryo 's/larven worden dood gemaakt met een hoge dosis van een anestheticum en verwijderd als biologisch afval.

5.5.6 BEREKENING VAN RESULTAAT VOOR ACUTE TOXICITEIT NA 96 U

5.5.6.1 LIMIETTEST VOOR % EFFECT

De aflezing voor 4 eindpunten voor acute toxiciteit op (96 ± 2) u voor elk van de 12 organismen per testconditie resulteert in een cumulatief aantal zebravisembryo 's waarvoor minstens één van de eindpunten verstoord was, ten opzichte van het totaal goede embryo's ($n=12$) bij aanvang van de test. Het resultaat wordt omgerekend in % van organismen met een acuut effect voor de hoogst geteste concentratie van het watermonster (onverdund of 50%) en voor de controle conditie.

5.5.6.2 TEST MET EEN VERDUNNINGSREEKS VOOR EC_{50} BEPALING

- Voor elke concentratie watermonster en voor de controle wordt het aantal zebravisembryo 's geteld, waarvoor er minstens één van de 4 eindpunten voor acute toxiciteit gescoord werd, en dit aantal wordt berekend ten opzichte van het aantal gezonde embryo's bij start ($n=12$) en uitgedrukt als % effect na 96 u blootstelling. Dit is naar analogie met de limiettest.
- De resultaten van % effect (Y-as) worden grafisch voorgesteld als functie van de concentratie (% verdunning) van het watermonster (X-as). Een betrouwbare EC_{50} waarde kan enkel afgeleid worden indien een goede concentratie-effect relatie met een verloop van ongeveer 0 tot 100% effect.
- Een EC_{50} waarde kan afgeleid of berekend worden op verschillende manieren (grafische interpolatie of statistische methoden, als probit analyse). Indien twee opeenvolgende concentraties met een onderlinge concentratieverhouding van 2, respectievelijk 0 en 100% effect veroorzaken, is het voldoende de EC_{50} te situeren tussen deze beide concentraties.

5.5.7 KWALITEITSCONTROLE

5.5.7.1 EERSTELIJNSCONTROLE

Beslissingscriterium voor geldigheid van de test:

Overleving in controle condities (viswater) moet steeds $\geq 90\%$ zijn op 96 u. De scores voor de controle van elke test moet bijgehouden worden in een limietkaart.

Herkomst en kwaliteit van testorganismen:

- Het onderhoud van de broedkoppels die gebruikt worden voor eiproductie in het labo, wordt geregistreerd. De productie van eitjes (globaal aantal, en aantal succesvolle kweekbakjes met ratio σ/φ), het gemiddelde bevruchtigingspercentage per batch eitjes en gebruik voor testen is traceerbaar via een logboek of databank.
- Bij aankoop van eitjes extern is de herkomst, het gemiddelde bevruchtigingspercentage per batch en gebruik voor testen traceerbaar via een logboek of databank.

5.5.7.2 TWEDELIJNSCONTROLE

De referentiestof of positieve controle is 3,4-dichloroaniline. Instructies voor bereiding van de stockoplossing zijn te vinden in BIJLAGE B.

De methode toegepast in het labo, hetzij met zebraviseitjes uit eigen productie, of met aangekochte eitjes wordt op de hieronder vermelde tijdstippen uitgevoerd met een positieve controle (3,4 dichloroaniline) waarvoor de EC_{50} bepaald wordt na 96 u voor een dilutiereeks met 0 en 100% effect (testrange 1-8 mg/l DCA).

- De EC_{50} wordt geregistreerd in een statistische controlekaart, en de ruwe gegevens met grafische voorstelling van concentratie-respons worden gecontroleerd voor een goede concentratie-effect relatie.
- De minimale frequentie voor een test met positieve controle is als volgt:
 - o Bij wekelijkse uitvoering van de test: driemaandelijks positieve controle testen.
 - o Bij maandelijkse uitvoering: zesmaandelijks een positieve controle test.
 - o Bovendien zal ieder van de betrokken uitvoerders minstens 1 maal per jaar een test met een dilutiereeks van een positieve controle uitvoeren.

5.5.7.3 OPVOLGING VAN AFWIJINGEN

Indien de EC_{50} resultaten van de positieve controle niet voldoen aan de vooropgestelde criteria, of afwijkende concentratie-effect curves bij een verdunningsreeks, of als de controle niet voldoet aan het criterium van $\geq 90\%$ overleving na (96 ± 2) u, dan dient een analyse van de oorzaak en reikwijdte uitgevoerd te worden. Indien hieruit blijkt dat bepaalde resultaten onbetrouwbaar zijn mogen deze niet gerapporteerd worden en dient een nieuwe bemonstering te worden uitgevoerd van de geteste waters. Indien van toepassing dient ook de impact op eerder gerapporteerde resultaten te worden nagegaan.

5.5.8 RAPPORTERING

Het testrapport bevat:

- De identificatie van het watermonster, gegevens over monsternamen, datum van testuitvoering met monster, resultaten van meting van de randvoorwaarden en aanpassingen, indien van toepassing.
- Verwijzing naar de betreffende WAC-methode voor ecotoxiciteit, en WAC-methode voor bepaling van fysicochemische parameters.
- Gegevens over het testorganisme (naam, herkomst, batch), motivatie voor keuze van testorganisme a.d.h.v. gemeten randvoorwaarde en type test met hoogste testconcentratie (limiet, of verdunningsreeks).
- Resultaten:
 - Fysicochemische parameters van testoplossingen en controle op $T = 0$ en $T = 96$ u
 - % effect na (96 ± 2) u in controle en watermonster, met de geteste concentratie (limiettest) of
 - EC_{50} voor acute effecten na (96 ± 2) u bij verdunningsreeks van het watermonster, met % effect in de hoogst geteste concentratie van het watermonster en grafiek voor concentratie-effect op 96 u.
- Opmerkingen en afwijkingen.

6 REFERENTIES

- Braunbeck T. & Lammer E. (2006). Detailed review paper "Fish embryo toxicity assay". UBA report under contract n° 20385422, German Federal Environment Agency, Berlin, 298 pp.
- ISO 7346-1 (1996). Water quality — Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] — Part 1: Static method.
- ISO 15088 (2007). Water quality — Determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish eggs (Danio rerio).
- Koninklijk besluit bescherming van proefdieren, KB 29 mei 2013. Zie ook: <https://dierenwelzijn.vlaanderen.be/sites/default/files/atoms/files/KB%2029.05.13%20Beschermin%20van%20proefdieren.pdf>, en bijlage, zie https://dierenwelzijn.vlaanderen.be/sites/default/files/atoms/files/Bijlagen%20bij%20KB%2029%20mei%202013%20proefdieren_0.pdf
- OECD guidelines for testing chemicals, N° 203 (2019) Fish, acute toxicity test.
- OECD guidelines for testing chemicals, N° 236 (2013). Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test.
- Richtlijn 2010/63/EU van het Europees Parlement en de Raad van 22 september 2010 betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt. Publicatieblad van de Europese Unie L 276/33. Zie ook: https://dierenwelzijn.vlaanderen.be/sites/default/files/atoms/files/2010-09-22_Richtlijn_EU-2010-63_bescherming-proefdieren.pdf
- Uitvoeringsbesluit 2012/707/EU van de commissie van 14 november 2012 tot vaststelling van een gemeenschappelijk format voor de indiening van de informatie overeenkomstig Richtlijn 2010/63/EU van het Europees Parlement en de Raad betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt. Publicatieblad van de Europese Unie L 320 van 17.11.2012, Zie <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/36ef2c9c-33b4-11e2-84d0-01aa75ed71a1/language-nl>
- Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de commissie van 16 april 2020 tot vaststelling van een gemeenschappelijk format en gemeenschappelijke inhoud voor de indiening van de informatie die door de lidstaten moet worden gerapporteerd overeenkomstig Richtlijn 2010/63/EU van het Europees Parlement en de Raad betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt en tot intrekking van Uitvoeringsbesluit 2012/707/EU van de Commissie. Zie: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32020D0569&from=nl>
- WAC/V/B/007. Ecotoxiciteitstest met vissen: acute toxiciteit voor de regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*)

BIJLAGE A: BEREIDING VAN CONTROLE- EN VERDUNNINGSMEDIUM VOOR ZEBRAVISEMBRYO TEST.

A.1 Bereiding stockoplossingen

Voor de bereiding van stockoplossingen met zouten worden reagentia met gekende analytische zuiverheid gebruikt.

- Calciumchloride: los 11.76 g calciumchloride dihydraat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) op in gedemineraliseerd water en leng aan tot 1 liter in een maatkolf.
- Magnesiumsulfaat: los 4.93 g magnesiumsulfaat heptahydraat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) op in gedemineraliseerd water en leng aan tot 1 liter in een maatkolf.
- Natriumbicarbonaat: los 2.52 g natriumbicarbonaat (NaHCO_3) op in gedemineraliseerd water en leng aan tot 1 liter in een maatkolf.
- Kaliumchloride: los 0.22 g kaliumchloride (KCl) op in gedemineraliseerd water en leng aan tot 1 liter in een maatkolf.

Deze oplossingen worden gelabeld en gedateerd, en kunnen gedurende 6 maanden donker en koel bij $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ bewaard worden.

A.2 Bereiding van verdunningsmedium

Elk van de 4 stockoplossingen wordt gebruikt bij een 1:40 verdunning. Een 1 liter maatkolf wordt ongeveer halfgevuuld met gedemineraliseerd water, en vervolgens wordt 25 ml van elk van de 4 stocks in de maatkolf toegevoegd, waarna er aangelengd wordt tot 1 liter met gedemineraliseerd water.

Deze oplossing wordt belucht tot minstens 90% zuurstofverzadiging en stabiele pH. Vervolgens wordt de pH gecontroleerd en als nodig bijgesteld met NaOH of HCl tot $\text{pH } 7.8 \pm 0.5$.

Het medium is gereed voor gebruik of kan koel $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ en donker bewaard worden gedurende maximum 3 maanden. De samenstelling van het medium is conform het ISO 7346-1 standaard dilutie medium.

BIJLAGE B: BEREIDING VAN DE STOCKOPLOSSING EN TESTOPLOSSING VAN REFERENTISTOF 3,4-DICHLOROANILINE.

Als positieve controle voor zebravisei test wordt 3,4 dichloroaniline (Cas 95-76-1; MM 162.02 g/mol) gebruikt.

Er wordt een stockoplossing 100 mg/l 3,4-DCA gemaakt in verdunningsmedium van de test (zie BIJLAGE A):

- Los 50 mg 3,4 DCA op in 500 ml verdunningsmedium
- Roer de stockoplossing gedurende 24 u bij kamertemperatuur in een afgesloten, donker recipiënt
- Meet na 24 u de pH in de stockoplossing en stel bij tot een pH-waarde ± 0.5 van die van verdunningsmedium
- De stockoplossing kan vervolgens donker, in de koelkast bewaard worden bij $(5 \pm 3)^{\circ}\text{C}$ gedurende max. 6 maanden
- Voor het gebruik van de stockoplossing, nodig bij het bereiden van verdunde testoplossingen, moet de stock telkens minstens 30 min. bij kamertemperatuur geroerd worden.

Voor een verdunningsreeks van 3,4 DCA met minstens 5 concentraties wordt een concentratierespons curve gegenereerd die toelaat om een EC50 waarde af te leiden. De bereiding van de verdunde testoplossingen wordt geregistreerd.

BIJLAGE C: VOORSTEL VAN WERKWIJZE VOOR HET OPZETTEN VAN BROEDKOPPELS VAN ZEBRAVIS VOOR DE PRODUCTIE VAN EITJES.

C.1 Broedvissen, *Danio rerio*

Minstens 2 weken voordat men eitjes wenst te collecteren wordt een groep volwassen vissen geselecteerd uit een goedgekeurde gezonde partij vissen of ze zijn beschikbaar in het labo als broedvissen. Om maximale eileg te bekomen worden mannetjes en vrouwtjes in deze periode in aparte aquaria geplaatst. Selectie van organismen van het juiste geslacht steunt grotendeels op ervaring.

Mannetjes worden herkend aan het strepenpatroon dat meer uitgesproken is. Bij vrouwtjes valt soms de dikkere buik op door aanwezigheid van rijpe eitjes (beter zichtbaar indien enkele dagen gescheiden van mannetjes) en de kleine uitstulping ter hoogte van de genitale papil.

De broedvissen worden op water van goede kwaliteit gehouden en regelmatig gevoederd. Behalve droge pellets kan men eveneens levend voer, zoals pekelkreeftjes (*Artemia salina*) en neonaten van de watervlo (*Daphnia magna*), geven hetgeen de algemene conditie en een succesvolle reproductie ten goede komt.

X.2 Opzetten van kweekbakjes

Daags voor eitjes nodig zijn voor een blootstelling worden volgende stappen genomen:

- Maak kleine kweekbakjes (met tussenschot) gereed en vul deze met voorverwarmd leidingwater (26 – 28°C) tot ongeveer 2 à 3 cm boven de bodem van de binnenbak. Het aantal bakken dat simultaan gebruikt wordt, is afhankelijk van het aantal eitjes dat men nodig heeft voor de geplande experimenten. Veronderstel per bakje een eiproductie van 100 tot 150 eitjes.
- Plaats mannelijke en vrouwelijke zebrawissen met een ratio van 3 tegen 2 in de kweekbakken (bij voorkeur zo laat mogelijk op de dag, bv. na 16 u). Laat de geslachten gescheiden zitten overnacht door het tussenschot te plaatsen
- Verrijk de bakken met kunststof planten.
- Plaats een deksel op de bakken en minimaliseer verstoring.
- Bij gebruik van kweekbakjes met scheiding tussen geslachten wordt het tussenschot 's morgens voorzichtig verwijderd 10 à 15 min voordat licht aangaat.
- Met het aangaan van het licht (instelling dag/nacht klok), zullen door de lichtpuls de vrouwtjes gestimuleerd worden om hun eitjes af te leggen waarna direct bevruchting volgt door de mannetjes.
- Vanaf een half uur nadat het licht is aangegaan kunnen de eitjes verzameld worden.

X.3 Voorbereidingen voor het verzamelen van de eitjes 's morgens bij eileg

- Breng een volume viswater (26 ± 1)°C in een glazen recipiënt zodanig dat de zeef ondergedompeld is.
- Pipetteer voor elke 100 ml viswater, 10 µl methyleenblauw (MB) van een stockoplossing (2%) in het glazen recipiënt en meng goed tot de oplossing een homogene lichtblauwe kleur heeft (= werkoplossing MB, 0.0002%)
- Vul een petrischaal half met viswater.
- Verplaats de broedvissen vanuit de kweekbakjes naar ander aquarium zodra blijkt dat eileg heeft plaatsgevonden.
- Verwijder de binnenbak en de kunststofplanten.

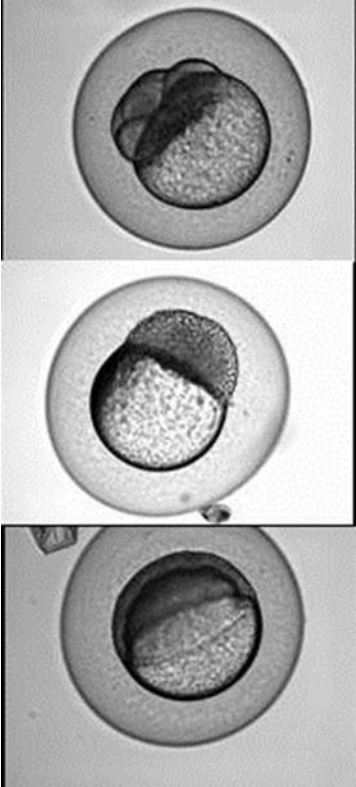
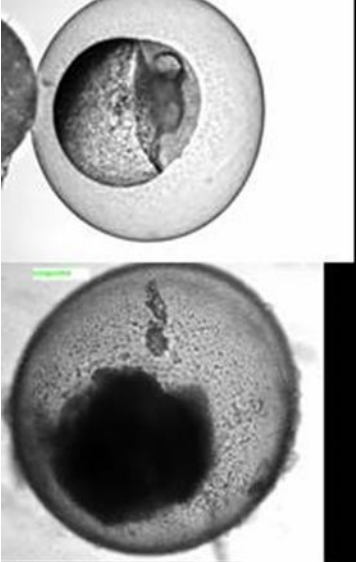
X.4 Verzamelen van de eitjes

- Giet zeer voorzichtig en van op een zo klein mogelijke afstand de inhoud van elk van de kweekbakjes apart over een zeef.
- Plaats de zeef zo snel mogelijk in de werkoplossing MB zodat de contacttijd van de eitjes met de lucht minimaal is.
- Kijk het legsel visueel na per kweekbakje. Indien overmaat van eitjes niet bevrucht lijken in een kweekbakje, dan wordt dit in zijn geheel verwijderd, en niet gepoold met de andere 'goede' kweekbakjes.
- Herhaal de twee bovenstaande stappen voor elk van de kweekbakken.
- Draai de zeef zachtjes rond in de MB-werkoplossing zodat alle eitjes goed gespoeld zijn.
- Houd de zeef vertikaal boven de petrischaal en spoel voorzichtig met de spuitbus met viswater de eitjes van de mazen van de zeef in de petrischaal.
- De verzamelde eitjes (legsel= pool van succesvolle kweekbakjes) zijn klaar voor evaluatie van de kwaliteit: ontwikkelingsstadium en bevrucht of dood, en blijven in de petriplaat met viswater.

Alle gebruikte materialen worden na gebruik grondig gespoeld met warm water om in de afwasmachine geplaatst te worden.

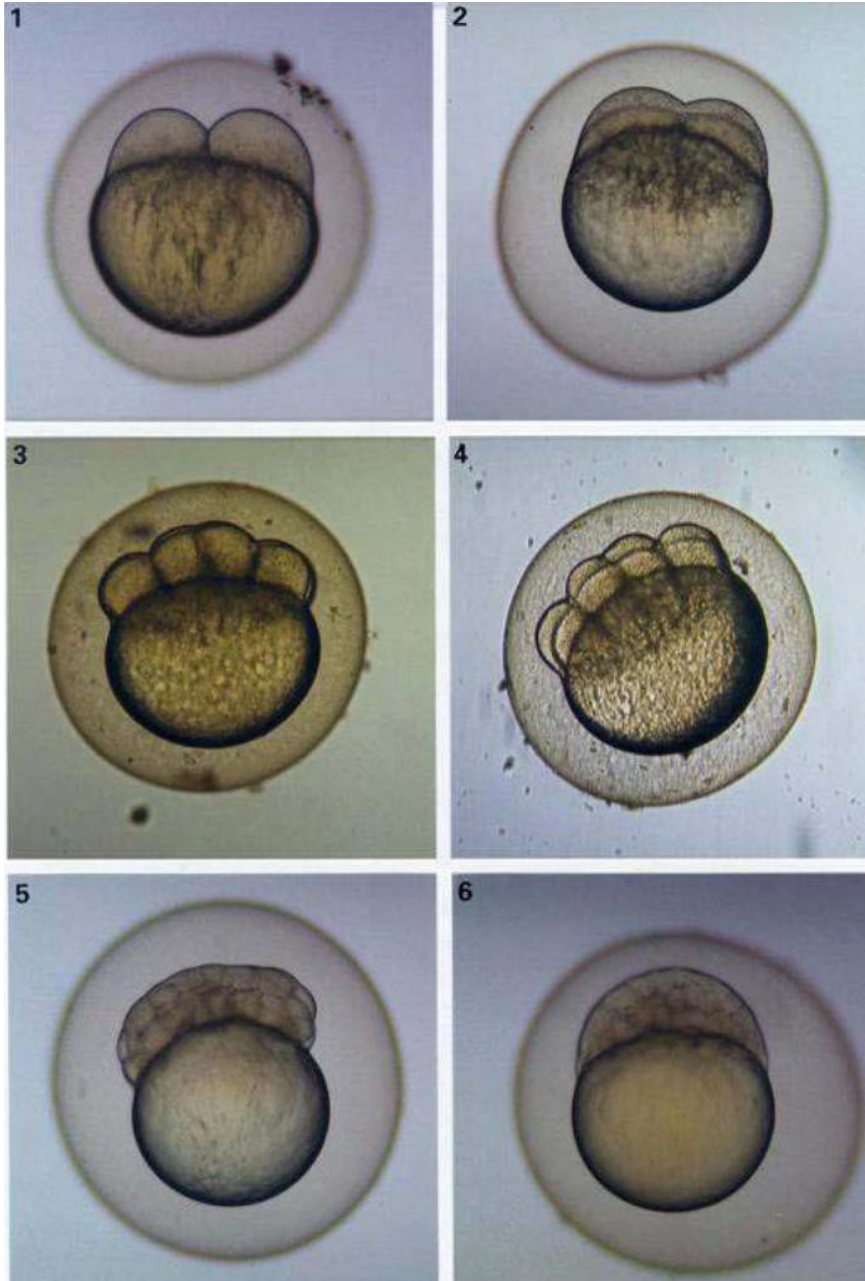
BIJLAGE D: FOTOMATERIAAL TER ILLUSTRATIE VAN ONTWIKKELINGSFASE EN EFFECTEN OP ZEBRAVISEITJES & -LARVEN.

Δ.1 Evaluatie van eitjes op dag 0

Goede bevruchte eitjes in ontwikkeling	Coagulatie/ niet bevruchte of dode eitjes
	

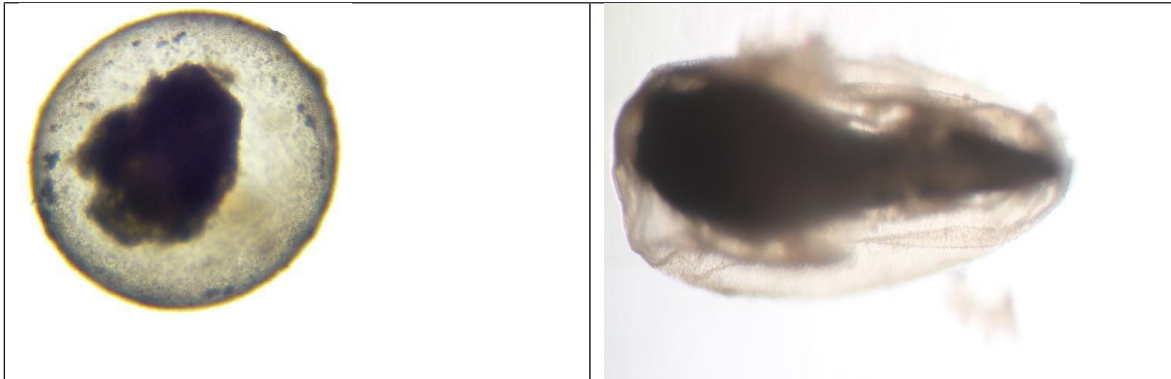
D.2 Evaluatie van synchrone ontwikkelingsstadia in 1^{ste} uren na bevruchting

Normale ontwikkeling van zebravis embryo (*Danio rerio*): (1) 0.75 u, 2-cellig stadium; (2) 1 u, 4-cellig stadium; (3) 1.2 u, 8-cellig stadium; (4) 1.5 h, 16-cellig stadium; (5) 4.7 u, start epibolie; (6) 5.3 u, ongeveer 50 % epibolie (uit Braunbeck & Lammer 2006).



D.3 Evaluatie van 4 eindpunten voor acute toxiciteit op 96 u

1. Eindpunt coagulatie zebravisembryo of dode larve



2. Ontbreken van somieten (pijljes)



3. Geen staartloslating (pijlje)



4. Ontbreken van hartslag (pijlje)



Ecotoxiciteitstest met algen: groei-inhibitietest met de zoetwateralg (*Pseudokirchneriella subcapitata*) of de mariene alg (*Phaeodactylum tricornutum*)

INHOUD

1	Toepassingsgebied	4
2	Keuze van testorganisme	4
3	Principe van de test	5
3.1	Groei-inhibitie als eindpunt voor toxiciteit bij algen	5
3.2	Limiettest	5
3.3	Verdunningsreeks	5
4	Definities	6
5	Groei-inhibitie test met de zoetwateralg, <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	6
5.1	Inleiding	6
5.2	Apparatuur en materiaal	7
5.3	Reagentia en oplossingen	8
5.4	Watermonster	8
5.5	Werkwijze	9
5.5.1	Algengroei-medium (controle) of verdunningswater	9
5.5.2	Testorganismen	10
5.5.3	Testoplossingen van watermonsters	11
5.5.4	Blootstelling	13
5.5.5	Evaluatie van test	13
5.5.6	Berekening van resultaat voor groei-inhibitie na 72 u	14
5.5.7	Kwaliteitscontrole	16
5.5.8	Rapportering	17
6	Groei-inhibitie test met de zoutwateralg, <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18
6.1	Inleiding	18
6.2	Apparatuur en materiaal	19
6.3	Reagentia en oplossingen	19
6.4	Watermonster	19
6.5	Werkwijze	21
6.5.1	Zoutwateralgengroei-medium (controle) of verdunningswater	21
6.5.2	Testorganismen	22
6.5.3	Testoplossingen van watermonster	23
6.5.4	Blootstelling	27
6.5.5	Evaluatie van test	28
6.5.6	Berekening van resultaat voor groei-inhibitie na 72 u	28
6.5.7	Kwaliteitscontrole	30
6.5.8	Rapportering	31
7	REFERENTIES	31

BIJLAGE A : Labocultuur van algen, en bereiden van precultuur_____	32
A.1 <i>Kweek van algen</i>	32
A.2 <i>Opzetten van precultuur</i>	32
BIJLAGE B : Algengroeimedum (Controle) en verdunningswater voor de zoetwatalgen test__	33
B.1 <i>Bereiding van stockoplossingen van nutriënten</i>	33
B.2 <i>Bereiding van zoetwatalgengroeimedum, of verdunningsmedum</i>	33
BIJLAGE C : Algengroeimedum (Controle) en verdunningswater voor de zoutwatalgen test__	34
C.1 <i>Bereiding synthetisch zoutwater</i>	34
C.2 <i>Bereiding stockoplossing van nutriënten en verdunningen voor bereiding van zoutwatalgenmedum</i>	34
C.3 <i>Bereiding van zoutwatalgenmedum, of verdunningswater</i>	34

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de werkwijze om de acute en chronische toxiciteit voor 2 soorten van ééncellige algen te bepalen. Deze test wordt als een chronische test beschouwd omdat de generatietijd korter is dan de blootstellingsduur. De test op algen wordt gebruikt om de toxiciteit voor het trofische niveau van de primaire producenten te meten.

De procedure is van toepassing voor

- Diverse waterige milieumatrices: afval-, oppervlakte-, drink- en grondwater.
- Waterige oplossingen met chemische stoffen (zoals deze voor de eerstelijnscontrole), mits deze goed oplosbaar zijn in water, of in oplossing blijven als stabiele suspensie of via dispersie, of met gebruik van een solvent.

De algen test op waters wordt standaard uitgevoerd met het zoetwaterorganisme *Pseudokirchneriella subcapitata*, een ééncellig groenwier of alg.

Echter in sommige waters kan de geleidbaarheid door aanwezige zouten zodanig hoog zijn, dat er schadelijke effecten kunnen optreden voor het zoetwaterorganisme (bv. toxiciteit door osmotische stress). De toxiciteit door milieugevaarlijke stoffen kan bijgevolg beïnvloed of gemaskeerd worden door effecten van het zout. Om die reden worden er voor een testorganisme zogenaamde 'randvoorwaarden' voor de fysicochemische parameters gedefinieerd. Er werd via VITO onderzoek aangetoond dat het meten van de geleidbaarheid een goede maat is voor de totale ionensterkte van de aanwezige zouten, waarvan chloriden en sulfaten de belangrijkste zijn. Indien de fysicochemische parameter geleidbaarheid voor de zoetwateralg overschreden is, dan zal men voor de algen test het zoutwaterorganisme *Phaeodactylum tricornutum* kiezen.

2 KEUZE VAN TESTORGANISME

Voor de juiste keuze van het testorganisme is meting van geleidbaarheid in het watermonster een vereiste.

De meting van geleidbaarheid wordt getoetst aan de randvoorwaarde voor de zoetwateralg, *Pseudokirchneriella subcapitata* (Tabel 1, Postma et al., 2002). Bij een overschrijding van de geleidbaarheid moet gekozen worden voor de zoutwateralg, *Phaeodactylum tricornutum* (zie 6).

De meetresultaten voor deze randvoorwaarde wordt gedateerd en gerapporteerd, ter motivatie voor de keuze van het testorganisme.

Tabel 1: Randvoorwaarde geleidbaarheid voor de zoetwateralg

Parameter	Geleidbaarheid ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Zoetwateralg, <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	$\leq$ 330 0

3 PRINCIPE VAN DE TEST

3.1 GROEI-INHIBITIE ALS EINDPUNT VOOR TOXICITEIT BIJ ALGEN

Exponentieel groeiende culturen van ééncellige algen worden blootgesteld aan het monster gedurende verschillende generaties over een periode van 3 dagen of 72 u, in gestandaardiseerde omstandigheden, en dit in vergelijking met een controle medium. De groei van de alg is de som van een aantal cellulaire en metabole processen. Het effect van een voor algen schadelijk watermonster vertaalt zich in een verminderde toename van de biomassa en verminderde groeisnelheid. De inhibitie van de groei en groeisnelheid in verhouding tot een controlecultuur wordt gemeten op welbepaalde tijdstippen (elke 24 u, of enkel na 72 u) en uitgedrukt als % effect.

3.2 LIMIETTEST

Voor het meten van de toxiciteit van waters wordt standaard een limiettest uitgevoerd op de hoogst mogelijke concentratie van het watermonster (~97%)¹. Voor de alg wordt het % effect enkel na 72 u blootstelling aan 1 testconditie gemeten, relatief ten opzichte van de optimale groei in controle medium en resultaten voor inhibitie van groeisnelheid worden gerapporteerd.

Voor de zoutwateralg is 1 testconditie in de limiettest niet voldoende vanwege de range geleidbaarheid (randvoorwaarde) en de verschillende zouten die nodig zijn voor groeicondities. Een protocol met 3 testcondities in vergelijking met controle wordt beschreven (zie 6.5.3.1).

3.3 VERDUNNINGSREEKS

Uitzonderlijk worden de testen uitgevoerd op een verdunningsreeks van het water. Dit kan van toepassing zijn wanneer dit vereist is in het kader van de bijzondere voorwaarde in een vergunning of bij verder onderzoek naar oorzaken van acute toxiciteit (TIE-Toxiciteit identificatie & evaluatie). Ook bij het testen van een referentiestof, als deel van kwaliteitscontrole, kan de test in een verdunningsreeks opgezet worden. Daarbij wordt het water (of de referentiestof) in een reeks van minstens 5 concentraties getest, bijvoorbeeld een 1:1 verdunning uitgaande van de hoogst mogelijke concentratie water (~97%), naast de controle conditie. De concentratiereeks van het water of de referentiestof wordt best zodanig gekozen dat de hoogste concentratie ongeveer 100% effect oplevert, en de laagste concentratie 0% effect (of niet significant verschillend van de controle) door bijv. de verdunningsfactor aan te passen. Dit laat toe een grafiek met concentratie-effect voor vermindering van biomassa en groeisnelheid te genereren, alsook een EC₅₀-waarde te berekenen die de concentratie van het water of referentiestof geeft waarbij 50% groei-inhibitie optreedt. Bij deze test met een verdunningsreeks kan eveneens het % effect, zoals in de limiettest, bepaald worden voor de hoogste testconcentratie van het water van de reeks na 72 u blootstelling.

¹ In de limiettest wordt de hoogst mogelijke concentratie van afvalwater getest. Voor de algen test is 100% watermonster niet mogelijk, vermits essentiële nutriënten en inoculum van algen worden toegevoegd, zodanig dat de hoogste testconcentratie steeds iets lager is dan 100%: zie 5.5.3.1 en 6.5.3.1

4 DEFINITIES

- Biomassa: de hoeveelheid biologisch materiaal per volume, in dit geval uitgedrukt in celconcentratie (eventueel omgerekend vanuit of uitgedrukt in een equivalent signaal als fluorescentie eenheden of optische densiteit, OD bij spectrofotometrische bepaling).
- Biomassa equivalent: wanneer de celconcentratie niet rechtstreeks gemeten wordt door telling, maar indirect via fluorescentie of UV/VIS-spectrometrie, dan kan dat signaal als biomassa equivalent worden beschouwd.
- Celconcentratie: is het aantal cellen, of beter algen, per ml.
- Groei: toename van de biomassa gedurende de testperiode.
- Groeisnelheid: toename van de biomassa per tijdseenheid.
- Limiettest: in de test wordt 1 concentratie van het water (nl. de hoogste concentratie of het onverdunde water) geëvalueerd in vergelijking met controle medium.
- EC₅₀: de concentratie water of chemische stof die leidt tot een vermindering met 50% van de biomassa, E_bC₅₀, of van de groeisnelheid (rate) E_rC₅₀ ten opzichte van de controle.
- Randvoorwaarden: voor het testmonster geldende grenzen voor fysicochemische parameters, zoals pH, O₂, geleidbaarheid, waarbij er geen effect op (acute) toxiciteit wordt verwacht ten opzichte van de controle conditie.
- Referentiestof: een referentiestof wordt getest om aan te tonen dat de gevoeligheid van de geteste soort onder laboratoriumomstandigheden niet in belangrijke mate veranderd is en/of de uitvoering van de test voldoet aan vooropgestelde criteria qua te verwachten toxische effecten voor de referentiestof (ook positieve controle).
- Toxiciteit identificatie en evaluatie (TIE): onderzoek naar de oorzaken van toxiciteit door waters te onderwerpen aan diverse behandelingen (filtratie, actieve kool, organische extractie) met het doel de toxiciteit toe te wijzen aan bepaalde fracties uit deze behandelingsstappen.

5 GROEI-INHIBITIE TEST MET DE ZOETWATERALG, PSEUDOKIRCHNERIELLA SUBCAPITATA

5.1 INLEIDING

De uitvoering van de groei-inhibitietest voor de zoetwateralg is gebaseerd op internationale richtlijnen, OECD 201 (2011) en ISO 8692 (2012).

De beschrijving in deze WAC-procedure is gebaseerd op uitvoering met de AlgtoxkitF, een commerciële kit (<https://www.microbiotests.com/>). Stocks van het controle medium (of dilutie medium), test- en meetrecipiënt en algen zijn aanwezig in de kit, of kunnen afzonderlijk aangekocht worden. De algen worden aangeboden in de vorm van 'beads' of parels, waarbij de algen geïmmobiliseerd zijn in een inerte matrix en tot 5 maanden in de koelkast bij (5 ± 3)°C bewaard kunnen blijven. Bij de testkit worden spectrofotometrische cuvetten met een weglengte van 10 cm aangeboden, met een afdekplaat, die tegelijk als testrecipiënt en meetcel fungeren.

Qua uitvoering zijn er evenwel een aantal varianten qua meetmethode, testrecipiënten, startcultuur van algen mogelijk, mits aan bepaalde voorwaarden is voldaan.

- Voor deze test is het ook toegestaan gebruik te maken van algen uit een continue cultuur in het labo, mits deze gezond is door wekelijkse passage op een rijk algenmedium. De algencultuur wordt onderhouden in steriele 250 ml glazen erlenmeyers met lucht-doorlaatbare stoppen in temperatuur- en licht gecontroleerde omstandigheden. Een

precultuur wordt gemaakt 2-4 dagen voor start van de toxiciteitstest (specificaties: zie BIJLAGE A).

- De bereiding van controle medium (en dilutie medium) is mogelijk vertrekkende van reagentia van analytische kwaliteit. Een werkwijze voor de bereiding en de samenstelling van het medium is te vinden in BIJLAGE B.
- De biomassa of concentratie van algen wordt klassiek bepaald met een deeltjesteller (voor sferische deeltjes in range 2.5 - 25 μm), of via microscopische evaluatie met telkamer. Alternatieve meetmethoden, zoals fluorescentie (excitatie 465 nm, emissie 670 nm) of spectrometrie (670 nm) zijn indirecte methoden die mits voldoende gevoelig en mits een correlatie tussen het signaal en algenconcentratie is aangetoond, ook gebruikt kunnen worden om groei te meten als biomassa equivalent. De AlgtoxkitF meet biomassa via spectrofotometrische analyse, die voldoende gevoelig is door het gebruik van meetcuvetten met een weglengte van 10 cm. Verder wordt er bij elke testkit en overeenkomstige batch van algen een werkblad geleverd met de correlatie tussen het OD-signaal voor spectrofotometrie met de 10 cm cuvetten en het aantal algen. De regressievergelijking wordt gebruikt bij de berekening van de resultaten om het gemeten OD-signaal uit te drukken als aantal cellen/ml.
- De klassieke test, beschreven door OECD 201 en ISO 8692, maakt gebruik van steriele, glazen erlenmeyers (100 of 250 ml) met luchtdoorlaatbare stoppen als testrecipiënt. Gelijkaardig materiaal, als steriele wegwerp celcultuurflessen zijn een valabel alternatief alsook multiwell platen of de 10 cm cuvetten in de AlgtoxkitF. Het materiaal en de geometrie van de testrecipiënten moet zodanig zijn dat uitwisseling van gassen naar de lucht door groei van algen mogelijk is, terwijl verlies en evaporatie van potentieel toxische stoffen vermeden wordt (zie ook Annex A en B in ISO 8692). De gekozen testrecipiënten moeten zodanig zijn dat aan de geldigheidscriteria voor de test met algen voldaan wordt (zie 5.5.7.1).

5.2 APPARATUUR EN MATERIAAL

- Thermometer en logger voor registratie min./max. temperatuur
- pH-meter voor pH meting conform WAC/III/A/005
- Geleidbaarheidsmeter voor meting geleidbaarheid conform WAC/III/A/004
- Materiaal en apparatuur voor de bepaling van ammonium en hardheid.
- Analytische balans, aflezing tot 0.1 mg.
- Algenincubator, of klimaatkamer met lichtbron, instelbare temperatuur ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) en schudtoestel (tenzij de algen minstens dagelijks geresuspendeerd worden via manueel schudden, zoals van toepassing bij de AlgalttoxkitF).
- Lichtbron, 3000-4000 Lux voor onderlangse verlichting, 10000 Lux voor zijdelingse verlichting.
- Lux meter
- Vortex
- Labocentrifuge en tubes 10-15 ml, 3000 rpm.
- Pipetten en toebehoren.
- Standaard labo glasmateriaal: maatkolven, maatcilinders voor bereiding van testoplossingen en verdunningen.
- Recipiënten voor meting van fysicochemische parameters.
- Tube met algenbeads van zoetwateralg, *Pseudokirchneriella subcapitata* (zie AlgalttoxkitF), met een specificatie sheet met batch nummer van het inoculum, houdbaarheidsdatum, E_bC_{50} & E_rC_{50} waarden van Kaliumbichromaat voor de batch, en een sheet met regressievergelijking van optische densiteit (OD) versus aantal algen (N) voor de batch algenbeads, of organismen uit eigen kweek (zie BIJLAGE A).

- Polystyreen long cells of cuvetten (10 cm), met afdekplaatje, geplaatst in verzamelbak te gebruiken als testrecipiënten (zie AlgaltokitF), en 2 polystyreen long cells, met afdekplaatje voor 0-calibratie van spectrometer, en meten van OD in geconcentreerde algenstock.
- Spectrofotometer, met meetcel geschikt voor cuvetten van 10 cm weglengte².

5.3 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- Gedemineraliseerd water (< 10 µS/cm).
- Flesje met speciaal medium 'Matrix dissolving medium', om matrix bij algenbeads te verwijderen.
- 5 flesjes met geconcentreerde zoutoplossingen voor algenmedium (zie AlgaltokitF) of de nodige zouten van analytische kwaliteit, zoals in Tabel 5 (zie BIJLAGE B) voor de bereiding van controle medium en verdunningsmedium.
- 1N HCl en 1N NaOH voor pH aanpassing van groeimedum, of van watermonster.
- Kaliumbichromaat, analytische kwaliteit (referentiestof, zie 5.5.7, Kwaliteitscontrole).

5.4 WATERMONSTER

Voor de monsternamen en houdbaarheid wordt verwezen naar respectievelijk WAC/I/A/003, WAC/I/A/004 en WAC/I/A/010.

Bij gebruik voor fysicochemische metingen om de randvoorwaarden te controleren wordt een gehomogeniseerd en representatief deelstaal genomen van het watermonster en op kamertemperatuur gezet.

Naast de meting van geleidbaarheid bij keuze van testorganisme (zie **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**) moeten eveneens pH, hardheid en ammonium gemeten en gerapporteerd worden. Voor de meeste van deze parameters zijn er aanvaardbare ranges gedefinieerd waarbij er geen effect op groei zal optreden (Tabel 2, Postma et al., 2002)

Tabel 2: Randvoorwaarde voor fysicochemische parameters voor zoetwateralg.

Parameter	pH	Zuurst of (mg/l)	Geleidbaarheid (µS/cm)	Hardheid (mg/l CaCO ₃)	Ammonium (mg/l NH ₄ ⁺ , bij pH 8 ³)
Zoetwateralg, <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	7 - 9	Niet relevant	≤ 3300	< 1000	< 25

Indien de pH van het watermonster buiten de toegelaten range valt (< 7 of > 9), dan wordt meteen de pH aangepast met zuur of base tot een pH-waarde overeenkomstig die van het controle medium

± 0.1. De aanpassing van pH wordt gerapporteerd.

De metingen van hardheid en ammonium worden gerapporteerd. In geval van afwijkende randvoorwaarden voor ammonium en hardheid wordt er niet gecorrigeerd, maar wordt overschrijding van randvoorwaarden duidelijk vermeld worden in het rapport, als mogelijke

2 Andere meetinstrumenten voor fluorescentie of deeltjesteller om aantal algen in testoplossing te kwantificeren zijn mogelijk.

3 Randvoorwaarde ammonium bij $\text{pH} > 8$ kan lager zijn vanwege hogere toxiciteit, maar data ontbreken.

parameter die bijdraagt tot gemeten toxiciteit, naast deze die te wijten zou zijn aan milieugevaarlijke stoffen.

In overleg met de opdrachtgever kan bij afwijking van ammonium alsnog een nieuwe test worden uitgevoerd door aanpassingen te doen (bijv. beluchten om ammoniak te strippen, of bufferen voor pH om ammonium/ammoniak effect uit te sluiten), gevolgd door meting van ammonium. Dergelijke aanpassingen aan het watermonster moeten gerapporteerd worden als een afwijking op de methode.

Naast de randvoorwaarden zijn er, specifiek voor de algentest, mogelijke interferenties op de meting van de algen (meest uitgesproken bij de spectrofotometrische analyse) wanneer er veel zwevend stof is, en wanneer het water gekleurd of troebel is. De methode met de AlgaltoxkitF voorziet bij de spectrofotometrische meting een correctie voor kleur en turbiditeit (zie 5.5.4. Blootstelling), die men steeds moet toepassen voor milieumatrices. De eventuele aanwezigheid van turbiditeit of kleur in het watermonster wordt gerapporteerd.

Indien er echter aanwijzingen zijn dat de methode met correctie geen betrouwbare resultaten geeft dan kan in overleg met de opdrachtgever de test opnieuw worden uitgevoerd nadat men het watermonster gaat behandelen, bijv. centrifugeren om overmaat zwevend stof te verwijderen of filtreren om steriel te maken en groei van micro-organismen die turbiditeit kunnen verhogen tijdens de incubatie uit te sluiten. Bij de rapportering moeten dergelijke behandelingen gemeld worden als een afwijking op de methode.

5.5 WERKWIJZE

5.5.1 ALGENGROEIMEDIUM (CONTROLE) OF VERDUNNINGSWATER

Er zijn 4 flesjes in de AlgaltoxkitF met geconcentreerde zoutoplossingen, genaamd Nutriënt stock A, B, C & D (overeenkomstig de stockoplossingen 1,2,3 & 4 in het ISO-medium, zie tabel in BIJLAGE B) om groeimedium voor algencultuur te maken. Dit medium wordt zowel gebruikt om de precultuur van de algenbeads op te starten (zie 5.5.2.1), alsook voor verdunningsmedium van het watermonster in de test (zie 5.5.3) of als controle conditie in de test.

- Neem een maatkolf van 1 liter, en vul met ongeveer 800 ml gedemineraliseerd water.
- Open het flesje 'Nutriënt stock A' en breng 10 ml in de 1 liter kolf.
- Open achtereenvolgens flesjes 'Nutriënt stock B, C en D' en voeg van elk van deze flesjes, telkens 1 ml in de kolf.
- Leng aan tot 1 liter in de maatkolf met gedemineraliseerd water, sluit af en goed mengen.
- Label de kolf, en bewaar overnacht in het donker of doorborrel gedurende 30 min. voor evenwicht instelling.
- Voor gebruik als medium, en na evenwicht instelling wordt de pH gecontroleerd en bijgesteld indien nodig tot pH **8.1 7.5** ± 0.2 , gebruik makend van 1N HCl of 1N NaOH.
- Het medium kan donker en koel (5 ± 3)°C bewaard worden gedurende max. 1 maand.

5.5.2 TESTORGANISMEN

Voor deze test maakt men gebruik van een snelgroeiende soort van ééncellige groene algen, *Pseudokirchneriella subcapitata*. Deze zoetwateralg kan in het labo aanwezig zijn als een continue cultuur, van waaruit voor de test een precultuur wordt gestart (zie BIJLAGE A).

Hierna beschrijven we het gebruik van algenbeads uit de AlgtoxkitF om een inoculum te bereiden geschikt voor de opzet van een toxiciteitstest, zodat een continue cultuur niet vereist is.

5.5.2.1 DE-IMMOBILISATIE VAN ZOETWATERALGEN UIT DE ALGENBEADS

- Neem een tube met algenbeads uit de kit, en giet voorzichtig bovenstaande vloeistof (bewaarmedium) af en verifieer of al de beads in de tube blijven.
- Neem het flesje 'Matrix dissolving medium', en pipetteer 5 ml in de tube met de algenbeads.
- Sluit de tube, en schud handmatig totdat de matrix rond de algen volledig is opgelost. Dit moet lukken in 5 à 10 min. Eventueel mag een vortex gebruikt worden om het proces te versnellen.
- Centrifugeer, 10 min. bij 3000 rpm.
- Giet de bovenstaande vloeistof af, en vervang met 10 ml gedemineraliseerd water.
- Sluit de tube, schud krachtig om een homogene algensuspensie te bekomen.
- Centrifugeer 10 min. bij 3000 rpm.
- Giet de bovenstaande vloeistof af, en vervang met 10 ml algengroeimedium.
- De tube is gereed voor bereiding van het geconcentreerde algeninoculum (zie 5.5.2.2)

5.5.2.2 METING VAN OPTISCHE DENSITEIT VAN ALGENSUSPENSIE VIA SPECTROMETRIE: AANDACHTSPUNTEN!

Metingen van optische densiteit (OD) zijn de maat voor hoeveelheid algen in suspensie na spectrofotometrische meting bij 670 nm, gebruik makend van de wegwerp cuvetten met weglengte 10 cm (long cells). Voor elke tube algenbeads is er een specificatie sheet met batch nummer, en overeenkomstig een sheet met de regressievergelijking voor de relatie OD en aantal algen. Indien men een andere meetmethode (of toestel) gebruikt voor het kwantificeren van algen is het nodig om het gemeten signaal (bijv. OD-meting, of fluorescentiemeting) te controleren met het tellen van de algen, en als nodig een nieuwe regressievergelijking op te stellen.

In belang van de reproduceerbaarheid van OD-metingen zijn er enkele richtlijnen die zeer strikt moeten nageleefd worden:

- De cuvetten moeten steeds in dezelfde richting in de houder van de spectrofotometer geplaatst worden, nl. met de pijlen op de zijwanden van de cuvet wijzend naar links.
- Men doet steeds een 0-calibratie met de spectrofotometer vooraleer te starten met de OD-metingen van algensuspensies. Deze 0-calibratie gebeurt steeds met dezelfde cuvet, gevuld met algengroeimedium. Men herhaalt deze 0-calibratie regelmatig (minstens om de 10 metingen) tijdens langere meetreeksen van algensuspensies.
- De algensuspensies in elk van de cuvetten, goed afgesloten met afdekplaatje worden elk apart gedurende 10 sec. grondig geschud met omkeren (zie foto's in handleiding van de testkit) voor een homogene verdeling van de algen, vlak voordat de cuvet in de spectrofotometer wordt geplaatst.
- De meting van OD gebeurt voor elke cuvet apart na ongeveer 10 sec. schudden (na het verdwijnen van eventuele luchtbelletjes en/of schuim).

5.5.2.3 BEREIDING VAN EEN GECONCENTREERDE ALGENINOCULUM

- Men zet de spectrofotometer op voor meting van algensuspensie bij 670 nm.
- Giet de 10 ml tube van de gede-immobiliseerde algenbeads in een maatkolf van 25 ml.
- Vul aan met algengroeimeidium, sluit af en schud voor een homogene algensuspensie.
- Neem de 2 cuvetten, met respectievelijk het label 'Calibration long cell' en 'Algal stock cell'.
- Vul de cuvet 'calibration long cell' met 25 ml algengroeimeidium en sluit af.
- Plaats de cuvet in de goede richting in de spectrofotometer en doe de 0-calibratie.
- Vul de cuvet 'algal stock cell' met de 25 ml uit de kolf met de algensuspensie, sluit goed af en schud gedurende 10 sec.
- Plaats de cuvet in de goede richting in de spectrofotometer en lees OD1 af na ongeveer 10sec.
- Neem de sheet met de grafiek OD/N en bereken het aantal algen (N1) overeenkomstig de gemeten OD1 van de stock.
- Het doel is om een geconcentreerd algeninoculum te maken met 1.10^6 algen/ml (= N2).
- Bereken de ratio N1/N2 hetgeen de verdunningsfactor is van de algensuspensie in de meetcuvet om een optische densiteit OD2 te bekomen die correspondeert met een algendensiteit van 1.10^6 algen/ml.
- Neem een maatkolf van 25 ml (indien verdunningsfactor < 2), of een maatkolf van 50 ml (als verdunningsfactor $\geq$ 2). Neem een gehomogeniseerd substraat uit de meetcuvet 'Algal stock cell', overeenkomstig de gewenste verdunning in de maatkolf, en leng aan met groeimeidium tot aan de maatstreep, sluit af en homogeniseer de algensuspensie.
- Neem een meetcuvet en vul met 25 ml van de nieuwe algenstock, sluit af en schud 10 sec. om vervolgens de OD te meten, nl. OD2. Controleer met de regressievergelijking of deze OD2 het verwachte aantal algen 1.10^6 algen/ml (N2) oplevert.

5.5.3 TESTOPLOSSINGEN VAN WATERMONSTERS

Het watermonster wordt op kamertemperatuur gebracht, en goed gehomogeniseerd door schudden voor gebruik. De testoplossingen worden vers bereid tot maximum 4 uur voor aanvang van de test. De test met milieumonsters wordt steeds uitgevoerd met correctie bij spectrofotometrische analyse van de testoplossingen, parallel aan controle met groeimeidium.

Voor elk van de testoplossingen (en controle met algengroeimeidium) wordt voldoende gemaakt voor de volgende testvolumes, en overeenkomstig worden maatkolven van voldoende volume gebruikt.

- Limiettest: 6 replica's x 25 ml
- Limiettest met correctie: 6 replica's x 25 ml + 1 replica 25 ml (zonder algen) voor correctie
- Verdunningsreeks: 3 replica's x 25 ml/testconditie, en volume watermonster nodig voor reeks van 5 diluties met een verdunningsfactor 2.
- Verdunningsreeks met correctie voor elke dilutie van het watermonster: 3 replica's x 25 ml + 1 replica 25 ml (zonder algen) voor correctie/ test conditie, en volume watermonster nodig voor reeks van 5 diluties met een verdunningsfactor 2.

5.5.3.1 LIMIETTEST VOOR % EFFECT

Het water wordt standaard in een limiettest geëvalueerd als onverdund water (of hoogste mogelijke testconcentratie) in vergelijking met een controle conditie (100% algengroeimeidium). Echter door het toevoegen van nutriënten stockoplossing bij het water (1.3 ml/100 ml), en een geconcentreerd algeninoculum (1ml/100 ml), overeenkomstig de nutriënten concentratie en algen in het algengroeimeidium (= controle), zal de hoogst geteste concentratie water niet helemaal 100% zijn, maar 97.7%. Deze afwijking qua geteste concentratie is beperkt en wordt verwaarloosd, mits de

verhouding toegevoegde nutriënten volume en volume algeninoculum op het totaal volume watermonster steeds overeenkomt met deze in de controle conditie.

De bereiding van testoplossingen met water, en controle met algengroeimedium voor de limiettest met correctie (voor kleur en/of turbiditeit) wordt bij wijze van voorbeeld hierna uitgewerkt⁴.

- Neem 2 maatkolven, elk van 250 ml, markeer C0 (controle) en CW (watermonster)
- Breng 250 ml algengroeimedium in kolf C0 (zie bereiding 5.5.1)
- Breng 200 ml water (100%) in kolf CW, voeg 2.5 ml van nutriëntenstock A, 0.25 ml van nutriëntenstock B, 0.25 ml van nutriëntenstock C en 0.25 ml van nutriëntenstock D, leng aan met watermonster tot aan de maatstreep voor 250ml, sluit af en homogeniseer.
- Neem 50 ml af uit de kolf C0, dit is algengroeimedium voor de 0-calibratie, en markeer als C0-calibratie.
- Neem 50 ml af uit de kolf CW, dit is testoplossing voor de kleur- en turbiditeit correctie, en markeer als CW-correctie.
- In de kolf C0 blijft 200 ml algengroeimedium; hier wordt 2 ml algeninoculum toegevoegd uit de gehomogeniseerde algenstock bereiding (zie 5.5.1) zodat de eindconcentratie algen in C0 overeenkomt met $1 \cdot 10^4$ algen/ml, sluit de kolf af en schud voor een homogene algensuspensie.
- In de kolf CW blijft 200 ml water met nutriënten; hier wordt 2 ml algeninoculum toegevoegd uit de gehomogeniseerde algenstock bereiding (zie 5.5.1) zodat de eindconcentratie algen in CW overeenkomt met $1 \cdot 10^4$ algen/ml, sluit de kolf af en schud voor een homogene algensuspensie. Deze verdunning resulteert in een hoogste testconcentratie van het watermonster van 97.7%.

5.5.3.2 TEST MET EEN VERDUNNINGSREEKS VOOR EC₅₀ BEPALING

Indien van toepassing (bijv. volgens bijzondere voorwaarde in vergunning van het bedrijf) moet het water in een verdunningsreeks getest worden om een EC₅₀ waarde te bepalen. Hiervoor wordt het water verdund met algengroeimedium (zie 5.5.1), voor minstens 5 concentraties met een verdunningsfactor 2, van het water in vergelijking met controle (0% water in algengroeimedium). Men zal analoog te werk gaan als bij de limiettest door eerst het onverdunde water aan te vullen met nutriënten, overeenkomstig het groeimedium voor de controle. Pas daarna zal de 1:1 verdunning van het watermonster met groeimedium gebeuren, en wordt algeninoculum toegevoegd bij elke testconcentratie van het watermonster, zoals bij de controle.

Uitzonderlijk is een range finding test nodig, bijv. indien zeer hoge toxiciteit verwacht wordt. Hierbij wordt een verdunningsreeks opgezet met hoge verdunningsfactor, bijv. 10 om de 0-100% effectrange te vinden. Uit deze test wordt de verfijnde testrange (met lagere verdunningsfactor, minimum 2) afgeleid met concentraties van water waarbij minstens 1 punt met 100% effect en een punt met een effect $\leq 10\%$, en met indien mogelijk meerdere punten op de helling van de concentratie-effect curve om een nauwkeurige EC₅₀ waarde te berekenen. Indien er weinig tot geen effect is ($< 50\%$ acute toxiciteit), kan er geen EC₅₀ waarde bepaald worden.

Een voorbeeld van bereiding van testoplossingen voor een dilutiereeks is terug te vinden in de handleiding bij de AlgaltookitF.

⁴ Rekenvoorbeeld voor 250 ml kolven zodat er ruimere marge is op volume testoplossing (inclusief correctie), maar overeenkomstig aan te passen voor 200 ml startvolume.

5.5.4 BLOOTSTELLING

5.5.4.1 BLOOTSTELLINGSCONDITIES

- Duur: (72 ± 2) u
- Licht-donker cyclus: continue belichting, 3000-4000 lux aan onderzijde van cuvetten, 10000 lux in geval van zijdelingse belichting.
- Dagelijks moeten de algen in de cuvetten manueel geresuspendeerd worden door schudden met omkeren (zie instructies handleiding).
- Temperatuur van testoplossingen: $(23 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ tijdens blootstelling, een temperatuur-gecontroleerde ruimte te gebruiken voor de test. Via een temperatuurlogger in een testbeker (25 ml test vloeistof) naast de testrecipiënten wordt de temperatuur opgevolgd gedurende de blootstellingsperiode.
- Testrecipiënt: polystyreen cuvetten, met afdekplaatje zoals voorzien bij AlgaltokitF (alternatieven zijn toegestaan, zie 5.1).
- Testvolume: 25 ml per cuvet (long cell) in de AlgaltokitF.
- Replica's: 6 per testconditie in de limiettest, 3 per conditie in de test met verdunningsreeks. Het aantal replica's voor de controle algengroei en de testcondities van het monster zijn gelijk.

5.5.4.2 TRANSFER TESTOPLOSSINGEN NAAR DE TESTRECIPIËNTEN (LONG CELL CUVETTEN)

- Neem het nodige aantal cuvetten (inclusief afdekplaatje), 18 per verzamelbakje, de plastic strip en rubbers om samen te houden. Markeer de cuvetten voor de verschillende testcondities, met nummering voor de replica cuvetten/conditie.
- Neem de bereide testoplossingen met algen C0, en CW, homogeniseer de oplossingen door schudden en vul de cuvetten telkens met 25 ml, met voor een limiettest 6 cuvetten per conditie (3 bij een dilutiereeks). Dus totaal 12 cuvetten voor een limiettest, en 18 cuvetten voor een dilutiereeks (3 x 5 concentraties watermonster + 3 x controle).
- Neem de 50 ml oplossingen (zonder algen) van controle (C0-calibratie), en van watermonster (voor CW-correctie). Indien men met een dilutiereeks werkt, zal er voor elke concentratie van watermonster een oplossing zijn voor correctie. Vul voor elk van de condities 1 cuvet met 25 ml algengroeiemedium (C0-calibratie) of van de testoplossing (CW-correctie).
- Al de gevulde cuvetten worden afgedekt en at random verdeeld voor testcondities, en replica's over verschillende verzamelbakjes. Plaats de cuvetten volgens de pijl op de zijwand in dezelfde richting. Voor de incubatie worden de afdekplaatjes voor elk van de cuvetten deels opgelicht, en men schuift aan de halfopen zijde de plastic strip tussen de cuvetten en het afdekplaatje zodat er open ruimte is voor gasuitwisseling zodat pH variatie beperkt blijft.
- In lijn met ISO 8692, wordt er uitgegaan van een nominale algendensiteit bij start van de test (zoals kan bepaald worden op basis van OD2 meting en 1:100 verdunning), en die tussen $0.5 - 1.5 \cdot 10^4$ algen/ml moet liggen. Er wordt geen spectrofotometrische meting uitgevoerd op $T=0$.
- De verzamelbakjes worden nu voor (72 ± 2) u incubatie, bij de juiste temperatuur en lichtcondities in de incubator of gethermostatiseerde kamer gezet. De cuvetten worden dagelijks manueel geschud om de algensuspensie te homogeniseren.
- De resterende testoplossingen in de maatkolven C0 en CW, met algeninoculum worden gebruikt voor meting van pH bij start van de test in alle testoplossingen van de limiettest of test met verdunningsreeks.

5.5.5 EVALUATIE VAN TEST

- Zowel in de limiettest als bij een verdunningsreeks wordt de optische densiteit enkel na (72 ± 2) u afgelezen.
- Zet de spectrofotometer op en neem de verzamelbakjes met cuvetten uit de incubator.

- Zorg ervoor bij de meting dat de cuvetten steeds in de goede richting (pijl naar links) in de meetcel staan.
- Begin met een 0-calibratie met de cuvet met algengroei-medium (zonder algen).
- Schud elk van de controle cuvetten gedurende 10 sec. en meet binnen 10 sec. de OD voor elk van de replica's van de controlegroep en registreer op laboformulier.
- Neem de cuvet voor CW-correctie (hoogste concentratie watermonster zonder algen), en doe hiermee een 0-calibratie. Schud vervolgens de replica's van de corresponderende testoplossing watermonster met algen, en meet na ongeveer 10 sec. op de spectrofotometer. Indien een dilutiereeks getest wordt, doe per dilutie eerst een 0-calibratie met de testoplossing zonder algen, en vervolg met de replica cuvetten met algen voor de corresponderende concentratie van testoplossing. Registreer al de gemeten OD-waarden.
- De testvloeistof van de replica cuvetten met algen wordt gepoold voor meting van de pH. De meting wordt uitgevoerd voor de controle conditie en alle testcondities van het watermonster.
- De temperatuurregistraties tijdens de incubatieperiode worden afgelezen voor min. en max. temperatuur, die gerapporteerd wordt.

5.5.6 BEREKENING VAN RESULTAAT VOOR GROEI-INHIBITIE NA 72 U

5.5.6.1 BEREKENING BIOMASSA OPBRENGST EN GROEISNELHEID

Er worden 2 eindpunten berekend op basis van evaluaties: opbrengst (biomassa) en groeisnelheid, maar enkel de parameter groeisnelheid wordt voor beoordeling van watermonster gerapporteerd. De berekende toename van biomassa gedurende (72 ± 2) u wordt gehanteerd als geldigheids criterium voor de test.

Microbiotests beschikt over een rekentemplate beschikbaar voor verwerking van data op basis van uitgevoerde OD-metingen, en de regressievergelijking voor relatie OD versus aantal algen voor de gebruikte algenbatch. De berekeningen zijn gebaseerd op volgende formules.

Groeisnelheid

De gemiddelde specifieke groeisnelheid voor een specifieke periode is de logaritmische toename in biomassa: voor elke replica van respectievelijk de controlegroep, en een concentratie van watermonster wordt deze specifieke groeisnelheid μ berekend als volgt:

$$\mu_{i-j} = (\ln BE_j - \ln BE_i) / (t_j - t_i)$$

Waarin: BE = biomassa equivalent
 t = tijdstip van de meting (t in dagen)
 $i-j$ = tijdsperiode waarbinnen de specifieke snelheid berekend wordt

De specifieke groeisnelheid per replica wordt gemeten voor de totale periode ($0 (=i) - 3 (=j)$ dagen).

Bereken voor de replica's van de controlegroep, een gemiddelde groeisnelheid, μ_c .

Bepaal vervolgens voor elke replica van de testoplossingen met watermonsters de procentuele inhibitie van groeisnelheid als functie van de gemiddelde groeisnelheid van de controle, μ_c , met volgende formule:

$$\%I_{ra} = (\mu_c - \mu_a) \times 100 / \mu_c$$

Waarin: μ_c = gemiddelde van specifieke groeisnelheid in controle
 μ_a = specifieke groeisnelheid in replica van concentratie a
 I_{ra} = % inhibitie van de groeisnelheid voor replica van concentratie a

Bereken voor de replica's van elke testconditie van het watermonster, een gemiddelde % groeisnelheid, I_{ra} .

Opbrengst biomassa

De opbrengst van biomassa, Y voor elke replica van de controlegroep en testoplossing wordt berekend als het verschil tussen biomassa op 72 u en op $t=0$ u. In laatste geval wordt de nominale concentraties voor biomassa gebruikt. De OD-waarden (biomassa equivalent) worden omgerekend in aantal algen.

$$Y_{i-j} = BE_i - BE_j$$

Waarin: BE = biomassa equivalent
 $i-j$ = tijdsperiode, met 0 (=i) – 3 (=j) dagen.

Een gemiddelde biomassa opbrengst wordt berekend voor de controlegroep Y_c , en de toename van biomassa in elke replica van de testoplossingen (Y_a) wordt uitgedrukt als % van het gemiddelde van de controlegroep via volgende formule:

$$\%I_{ba} = (Y_c - Y_a) \times 100 / Y_c$$

Waarin: Y_c = gemiddelde van biomassa toename in controle
 Y_a = biomassa toename in replica a van testoplossing a
 $\%I_{ba}$ = % inhibitie van de biomassa voor replica van concentratie a

Bereken voor de replica's van elke testconditie van het watermonster, een gemiddelde procentuele biomassa I_{ba} , relatief t.o.v. controlegroep.

5.5.6.2 LIMIETTEST VOOR % INHIBITIE GROEISNELHEID

De aflezing van OD op (72 ± 2) u (voor elke van de replica's van de hoogste concentratie van watermonster), met omrekening naar aantal algen resulteert in een groeisnelheid over 3 dagen in vergelijking met de groeisnelheid voor de controle replica's. De inhibitie van groeisnelheid wordt uitgedrukt als gemiddelde van inhibitie van groeisnelheid voor de individuele replica's, relatief ten opzichte van de gemiddelde groeisnelheid van controlegroep.

Rapportage van het % effect in de limiettest is dus het gemiddelde van de % inhibitie van groeisnelheid in de hoogste concentratie van het watermonster.

5.5.6.3 TEST MET EEN VERDUNNINGSREEKS VOOR EC_{50} BEPALING

- Per replica van elke concentratie watermonster en controle wordt de groeisnelheid over periode van (72 ± 2) u berekend.
- De gemiddelde groeisnelheid van de controlegroep wordt berekend op basis van groeisnelheid van alle controle replica's.
- Het % inhibitie van de groeisnelheid, als gemiddelde van de replica's per testconcentratie van het watermonster in de verdunningsreeks, wordt uitgedrukt als functie van de gemiddelde groeisnelheid in de controlegroep. Dit resulteert in een % effect voor elke dilutie van watermonster.
- De resultaten van % effect (Y -as) voor inhibitie algengroei worden grafisch voorgesteld als functie van de concentratie (% verdunning) van het water (X -as). Mits een goed concentratie-effect verband kan een EC_{50} waarde berekend worden voor de inhibitie van groeisnelheid.

- Een E_rC_{50} waarde kan afgeleid of berekend worden op verschillende manieren (grafische interpolatie of statistische methoden, als probit analyse). Indien twee opeenvolgende concentraties met een onderlinge concentratieverhouding van 2 respectievelijk 0 en 100% effect veroorzaken, is het voldoende de E_rC_{50} te situeren tussen deze beide concentraties.

5.5.7 KWALITEITSCONTROLE

5.5.7.1 EERSTELIJNSCONTROLE

Beslissingscriterium voor geldigheid van de test:

- De toename van biomassa in de controle gedurende (72 ± 2) u moet minstens een factor 16 zijn.
- De variatie van de groeisnelheid tussen de controle replica's over de periode van (72 ± 2) u mag niet groter zijn dan 7% ($n=6$, limiettest), en niet groter dan 10% ($n=3$, test verdunningsreeks).
- De pH in de controle conditie mag maximum 1.5 pH eenheid verschillen tussen begin en einde van de test.

Deze waarden worden bijgehouden in limietkaarten.

Herkomst en kwaliteit van testorganismen:

- Bij het gebruik van algenbeads uit de AlgatoxkitF wordt steeds het batchnummer op het laboformulier vermeld. De gegevens over de gevoeligheid van elke gebruikte batch in de vorm van een E_rC_{50} en E_bC_{50} voor referentiestof, uitgevoerd door Microbiotests worden bijgehouden in een databestand.
- Bij gebruik van algen uit een continue labocultuur is een logboek ter beschikking om het onderhoud met de aankoop van algen met identificatie (bijv. bij UK, Culture Collection of Algae and Protozoa, <https://www.ccap.ac.uk/>), het gebruikte groeimedum, passages en condities van onderhoud op te volgen.

5.5.7.2 TWEEDELIJNSCONTROLE

De methode toegepast in het labo, hetzij vertrekkende van algenbeads, hetzij met algen uit continue cultuur, wordt op de hieronder vermelde tijdstippen uitgevoerd met een positieve controle (Kaliumbichromaat) waarvoor de E_rC_{50} bepaald wordt na 72 u voor een dilutiereeks van 1.8 tot 0.18 mg/l (voor details zie handleiding AlgatoxkitF).

- De E_rC_{50} wordt geregistreerd in een statistische controlekaart, naast deze van de corresponderende batch voor de AlgatoxkitF, indien van toepassing.
- De minimale frequentie voor een test met positieve controle is als volgt:
 - o Bij wekelijkse uitvoering van de test: driemaandelijks positieve controle testen.
 - o Bij maandelijkse uitvoering: zesmaandelijks een positieve controle test.
 - o Bovendien zal ieder van de betrokken uitvoerders minstens 1 maal per jaar een test met positieve controle uitvoeren.

5.5.7.3 DERDELIJNSCONTROLE

Minstens 1x per jaar deelnemen aan een externe ringtest, indien georganiseerd (bijv. Aquacheck).

5.5.7.4 OPVOLGING VAN AFWIJINGEN

Indien de E_rC_{50} resultaten van de positieve controle niet voldoen aan de statistische grenzen voor algen gebruikt uit eigen kweek, of de door MicroBioTests aangegeven grenzen op de specificatie sheet van de beads, of als één of meer van de geldigheidscriteria voor de controle niet voldoen, dan

dient een analyse van de oorzaak en reikwijdte uitgevoerd te worden. Indien hieruit blijkt dat bepaalde resultaten onbetrouwbaar zijn mogen deze niet gerapporteerd worden en dient een nieuwe bemonstering te worden uitgevoerd van de geteste watermonsters. Indien van toepassing dient ook de impact op eerder gerapporteerde resultaten te worden nagegaan.

5.5.8 RAPPORTERING

Het testrapport bevat:

- De identificatie van het monster, gegevens over monstername, datum van testuitvoering met monster, resultaten van meting van al de randvoorwaarden en aanpassingen, indien van toepassing.
- Verwijzing naar de betreffende WAC-methode voor ecotoxiciteit en WAC-methode voor bepaling van fysicochemische parameters. Gegevens over het testorganisme (naam, herkomst, batch), met motivatie voor keuze van testorganisme a.d.h.v. gemeten randvoorwaarde en type test (limiet, of verdunningsreeks).
- Resultaten:
 - o Fysicochemische parameters van testoplossingen en controle op T=0 en T=72u
 - o % effect voor inhibitie van groeisnelheid na (72 ± 2) u in controle en watermonster (limiettest) of
 - o E_rC_{50} , met methode van berekening, voor inhibitie van groeisnelheid na (72 ± 2) u bij verdunningsreeks van watermonster, met % effect in de hoogst geteste concentratie van het watermonster en grafiek voor concentratie-effect op 72u.
- Opmerkingen en afwijkingen.

6 GROEI-INHIBITIE TEST MET DE ZOUTWATERALG, PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM

6.1 INLEIDING

De uitvoering van de groei-inhibitietest voor de zoutwatalg is gebaseerd op de internationale richtlijnen, ISO 10253 (2016).

Voor de uitvoering van deze test zal men gebruik maken van een commerciële kit, de AlgtoxkitM (<https://www.microbiotests.com/>) met de zoutwatalg of kiezelwier soort, *Phaeodactylum tricornutum*. Stocks voor bereiding van synthetisch zoutwater, en stocks van nutriënten voor bereiding van zoutwatalgen medium (ook dilutie medium), test- en meetrecipiënt en algen zijn aanwezig in de kit, of kunnen afzonderlijk aangekocht worden. De algen worden aangeboden als een geconcentreerd inoculum, waarbij de algen geïmmobiliseerd zijn in een inerte matrix en tot 6 maanden in de koelkast (5 ± 3)°C bewaard kunnen blijven. Bij de testkit worden spectrofotometrische cuvetten met een weglengte van 10 cm aangeboden, met een afdekplaat, die tegelijk als testrecipiënt en meetcel fungeren.

De beschrijving in deze WAC-procedure is gebaseerd op uitvoering met de AlgtoxkitM.

Qua uitvoering zijn er evenwel een aantal varianten qua meetmethode, testrecipiënten, startcultuur van algen mogelijk, mits aan bepaalde voorwaarden is voldaan.

- Voor deze test is het ook toegestaan gebruik te maken van algen uit een continue cultuur in het labo, mits deze gezond is door wekelijkse passage op een rijk algenmedium. De algencultuur wordt onderhouden in steriele 250 ml glazen erlenmeyers met luchtdoorlaatbare stoppen in temperatuur- en licht gecontroleerde omstandigheden. Een precultuur wordt gemaakt 2-4 dagen voor start van de toxiciteitstest (specificaties: zie BIJLAGE A).
- De bereiding van zoutwatalgengroeimedium met nutriënten (en dilutie medium) is ook mogelijk vertrekkende van reagentia van analytische kwaliteit. Een werkwijze voor de bereiding en de samenstelling van het medium is te vinden in BIJLAGE C.
- De biomassa of concentratie van algen wordt klassiek bepaald met een deeltjes teller (voor sferische deeltjes in range 2.5 - 25 μm), of via microscopische evaluatie met telkamer. Alternatieve meetmethoden, zoals fluorescentie (excitatie 465 nm, emissie 670 nm) of spectrometrie (670 nm) zijn indirecte methoden die mits voldoende gevoelig en mits een correlatie tussen het signaal en algenconcentratie is aangetoond, ook gebruikt kunnen worden om groei te meten als biomassa equivalent. De AlgtoxkitM meet biomassa via spectrofotometrische analyse, die voldoende gevoelig is door het gebruik van meetcuvetten met een weglengte van 10 cm. Verder wordt er bij elke testkit en overeenkomstige batch van algen een werkblad geleverd met de correlatie tussen het OD-sigitaal voor spectrometrie met de 10 cm cuvetten en het aantal algen. De regressievergelijking wordt gebruikt bij de berekening van de resultaten om het gemeten OD-sigitaal uit te drukken als aantal algen/ml.
- De klassieke test beschreven onder ISO 10253 (2016), maakt gebruik van steriele, glazen erlenmeyers (bijv. 250 ml) met luchtdoorlaatbare stoppen als testrecipiënt. Gelijkaardig materiaal, als steriele wegwerp celcultuurflessen zijn een valabel alternatief alsook multiwell platen of de 10 cm cuvetten in de AlgtoxkitM. Het materiaal en de geometrie van de testrecipiënten moet zodanig zijn dat uitwisseling van gassen naar de lucht door groei van algen mogelijk is, terwijl verlies en evaporatie van potentieel toxische stoffen vermeden wordt (zie ook Annex B in ISO 10253). De gekozen testrecipiënten moeten zodanig zijn dat aan de geldigheidscriteria voor de test met algen voldaan wordt (zie 6.5.7.1).

6.2 APPARATUUR EN MATERIAAL

- Thermometer en logger voor registratie min. en max. temperatuur
- pH-meter voor meting conform WAC/III/A/005
- Geleidbaarheidsmeter voor meting geleidbaarheid conform WAC/III/A/004
- Materiaal en apparatuur voor de bepaling van ammonium en hardheid.
- Analytische balans, aflezing tot 0.1 mg.
- Algenincubator, of klimaatkamer met lichtbron, instelbare temperatuur (20 ± 2)°C en schudtoestel (tenzij de algen minstens dagelijks geresuspendeerd worden via manueel schudden zoals van toepassing bij de AlgaltokitF).
- Lichtbron, 3000-4000 Lux voor onderlangse verlichting, 10000 Lux voor zijdelingse verlichting.
- Lux meter
- Vortex
- Pipetten en toebehoren.
- Standaard labo glasmateriaal: maatkolven, maatcilinders voor bereiding van testoplossingen en verdunningen.
- Recipiënten voor meting van fysicochemische parameters.
- Tube met algeninoculum van zoutwateralg, *Phaeodactylum tricornutum* (zie AlgaltokitM), met een specificatie sheet met batch nummer van het inoculum, houdbaarheidsdatum, E_bC_{50} & E_rC_{50} waarden van Kaliumbichromaat voor de batch, en een sheet met regressievergelijking optische densiteit (OD) versus aantal algen (N) voor de batch.
- Polystyreen long cells of cuvetten (10 cm), met afdekplaatje, geplaatst in verzamelbak te gebruiken als testrecipiënten (zie AlgaltokitM), en 2 polystyreen long cells, met afdekplaatje voor 0-calibratie van spectrofotometer, en cuvet voor opzetten van precultuur.
- Spectrofotometer, met meetcel geschikt voor cuvetten van 10 cm weglengte⁵.

6.3 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- Gedemineraliseerd water ($< 10 \mu\text{S/cm}$).
- 7 flesjes met geconcentreerde zoutoplossingen voor het synthetisch zoutwater, en 3 flesjes met geconcentreerde stocks voor nutriënten (zie AlgaltokitM) of de nodige zouten van analytische kwaliteit, zoals in Tabel 6 en Tabel 7 (zie BIJLAGE C) voor de bereiding van zoutwateralgengroeimeedium.
- 1N HCl en 1N NaOH voor pH aanpassing van groeimeedium.
- Kaliumbichromaat, analytische kwaliteit (referentiestof, zie 6.5.7, Kwaliteitscontrole).

6.4 WATERMONSTER

Voor de monsternamen en houdbaarheid wordt verwezen naar respectievelijk WAC/I/A/003, WAC/I/A/004 en WAC/I/A/010.

Bij gebruik voor fysicochemische metingen om de randvoorwaarden te controleren wordt een gehomogeniseerd en representatief deelstaal genomen en op kamertemperatuur gebracht.

Naast de meting van geleidbaarheid voor keuze van soort alg worden andere fysicochemische parameters, zoals pH, hardheid en ammonium gemeten. Voor de meeste van deze parameters zijn

⁵ Andere meetinstrumenten voor fluorescentie of deeltjesteller om aantal algen in testoplossing te kwantificeren zijn mogelijk.

er aanvaardbare ranges gedefinieerd waarbij er geen effect op groei zal optreden (Tabel 3, Postma et al., 2002).

Tabel 3: Randvoorwaarde voor fysicochemische parameters voor zoutwateralg.

Parameter	pH	Zuurstof (mg/l)	Geleidbaarheid ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Hardheid (mg/l CaCO_3)	Ammonium (mg/l NH_4^+ , bij pH 8) ⁶
Zoutwateralg, <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	7 - 9	Niet relevant	> 22000 - $\leq$ 46000	g . d .	< 60

g.d.: geen data

Op basis van de meting van geleidbaarheid in het watermonster > 3300 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (zie **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**, bij keuze van testorganisme) wordt met de zoutwateralg, *Phaeodactylum tricornutum* getest. Postma et al. (2002) stelt dat een geleidbaarheid < 11500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ in watermonsters kan bijdragen tot toxiciteit voor deze zoutwateralg. Naast eerdere preliminaire testen uitgevoerd bij Microbiotests werd via recent onderzoek aangetoond dat nadelige effecten op de groei van zoutwateralg in de range van >3300 tot en met 22000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ voorkomen, ondanks de toevoeging van micronutriënten. Er wordt daarom in het watermonster met een geleidbaarheid in de range van >3300 - 22000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ gecorrigeerd door 10 g/l NaCl toe te voegen om tegemoet te komen aan de zouttolerantierange voor de zoutwateralg. Er werd bovendien aangetoond dat toevoeging van NaCl aan een watermonster niet voldoende kan zijn voor optimale groei, maar ook de 6 andere zouten (flesjes 2-7, zie Tabel 4) zijn nodig. Details voor aanpassing van het watermonster met toevoeging van respectievelijk NaCl en /of 6 geconcentreerde zoutoplossingen in de testoplossing worden verder beschreven (zie 6.5.3), en dient gerapporteerd te worden.

Indien de geleidbaarheid in het watermonsters de bovengrens overschrijdt, dan zal in een limiettest het watermonster verdund worden tot 50% als hoogste concentratie (geen correctie met NaCl) om het % effect af te lezen. Bij het testen van een verdunningsreeks van het watermonster zullen er minstens 2 of 3 testcondities in het bereik van een geleidbaarheid $\leq$ 46000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ vallen (voldoet aan randvoorwaarde) om een EC_{50} af te leiden.

Indien de pH van het watermonster buiten de toegelaten range valt (< 7 of > 9), dan wordt meteen de pH aangepast met zuur of base tot een pH-waarde overeenkomstig die van het zoutwater controle medium $\pm$ 0.1.

De metingen van hardheid en ammonium worden gerapporteerd. In geval van afwijkende randvoorwaarden voor ammonium wordt er niet gecorrigeerd, maar wordt de overschrijding duidelijk vermeld in het rapport, als mogelijke parameter die bijdraagt tot gemeten toxiciteit, naast deze die te wijten zou zijn aan milieugevaarlijke stoffen.

In overleg met de opdrachtgever kan bij afwijking van ammonium alsnog een nieuwe test uitgevoerd worden uitgevoerd door aanpassingen te doen (bijv. beluchten om ammoniak te strippen, of bufferen voor pH om ammonium/ammoniak effect uit te sluiten) gevolgd door meting van ammonium. Dergelijke aanpassingen aan het watermonster moeten gerapporteerd worden als een afwijking op de methode.

6 Randvoorwaarde ammonium bij pH > 8 kan lager zijn vanwege hogere toxiciteit, maar data ontbreken.

Naast de randvoorwaarden zijn er, specifiek voor de algentest, mogelijke interferenties op de meting van algen (meest uitgesproken bij de spectrofotometrische analyse) wanneer er veel zwevend stof is, en wanneer het water gekleurd of troebel is. De methode met de AlgaltoxkitM voorziet bij de spectrofotometrische meting een correctie voor kleur en turbiditeit (zie 6.5.4. Blootstelling), die men steeds moet toepassen bij een test op milieumatrices. De eventuele aanwezigheid van turbiditeit of kleur in het watermonster wordt gerapporteerd.

Indien er echter aanwijzingen zijn dat de methode met correctie geen betrouwbare resultaten geeft dan kan in overleg met de opdrachtgever de test opnieuw worden uitgevoerd nadat men het watermonster gaat behandelen, bijv. centrifugeren om overmaat zwevend stof te verwijderen of filtreren om steriel te maken en groei van micro-organismen die turbiditeit kunnen verhogen tijdens de incubatie uit te sluiten. Bij de rapportering moeten dergelijke behandelingen gemeld worden als een afwijking op de methode.

6.5 WERKWIJZE

6.5.1 ZOUTWATERALGENGROEIEMEDIUM (CONTROLE) OF VERDUNNINGSWATER

Er zijn 7 flesjes in de AlgaltoxkitM met geconcentreerde zoutoplossingen voor de bereiding van synthetisch zeewater (Tabel 4).

Tabel 4: Flesjes met geconcentreerde zoutoplossingen geleverd bij de AlgaltoxkitM

Flesje nr.	Naam zoutoplossing	Concentratie flesje	Concentratie bereid zoutwater groeimedium
1	NaCl	2112 g/l	26.4 g/l
2	KCl	67.2 g/l	840 mg/l
3	CaCl ₂ ·2H ₂ O	133.6 g/l	1670 mg/l
4	MgCl ₂ ·6H ₂ O	368 g/l	4600 mg/l
5	MgSO ₄ ·7H ₂ O	446.4 g/l	5580 mg/l
6	NaHCO ₃	13.6 g/l	170 mg/l
7	H ₃ BO ₃	2.4 g/l	30 mg/l

- Neem een maatkolf van 2 liter, en vul met ongeveer 1500 ml gedemineraliseerd water.
- Neem flesje 1 (NaCl) en breng in de kolf, en schud tot het zout is opgelost.
- Neem flesje 2 (KCl) en voeg toe in de kolf, en schudden tot opgelost is.
- Herhaal dit beurteling voor de andere flesjes, in volgorde van nummering, nl. flesje 3 (CaCl₂·2H₂O), flesje 4 (MgCl₂·6H₂O), flesje 5 (MgSO₄·7H₂O), flesje 6 (NaHCO₃) en flesje 7 (H₃BO₃).
- Sluit de kolf af en meng door schudden.

Er zijn 3 flesjes met stockoplossingen voor nutriënten in de AlgaltoxkitM, flesje A, B en C die corresponderen met de samenstelling van stockoplossingen 1, 2 en 3 van nutriënten in het ISO 10253 medium (zie Tabel 7 in BIJLAGE C).

- Neem flesjes A en voeg 30 ml (2x15 ml) toe in de kolf van 2 liter, sluit af en schud.
- Neem flesje B en voeg 1 ml toe in de kolf, sluit af en schud.
- Neem flesje C en voeg 2 ml toe in de kolf
- Leng aan tot 2 liter met gedemineraliseerd water, en schud tot een homogene oplossing.
- Label de kolf, en bewaar overnacht in het donker of doorborrel gedurende 30 min. voor evenwicht instelling.

- Voor gebruik als medium, en na evenwicht instelling wordt de pH gecontroleerd en bijgesteld indien nodig tot $\text{pH } 8.0 \pm 0.2$, gebruik makend van 1N HCl of 1N NaOH.
- Het zoutwateralgengroei-medium kan donker en koel bij $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ bewaard worden gedurende max. 1 maand.

Dit medium wordt zowel gebruikt om de precultuur van de algen op te starten (zie 6.5.2.1), alsook voor verdunningsmedium van watermonster in de test (zie 6.5.3) of als controle conditie in de test.

6.5.2 TESTORGANISMEN

Voor deze test maakt men gebruik van de diatomeeën of kiezelwier soort, *Phaeodactylum tricornutum*. Deze zoutwateralg kan in het labo aanwezig zijn als een continue cultuur, van waaruit voor de test een precultuur wordt gestart (zie BIJLAGE A).

Hierna beschrijven we het gebruik van algen uit de AlgtoxkitM om een inoculum te bereiden geschikt voor de opzet van een toxiciteitstest, zodat een continue cultuur niet vereist is.

6.5.2.1 PRECULTUUR VAN ZOUTWATERALGEN UIT DE ALGENINOCULUM

- Start een precultuur 3 dagen voor de geplande start van de test.
- Neem een tube met algeninoculum uit de kit, schud krachtig en giet voorzichtig de volledige inhoud in een cuvet (long cell, gemarkeerd preculturing cell).
- Spoel de tube 2x met telkens 7.5 ml zoutwateralgengroei-medium (zie bereiding 6.5.1), en breng dit over in de cuvet.
- Sluit de cuvet met het afdekplaatje, en incubeer bij $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ in een temperatuur gecontroleerde kamer of incubator, met continu licht (koel, wit fluorescente lampen met 10000 Lux bij zijdelingse belichting of 3000-4000 Lux indien onderlangse belichting).
- Na 3 dagen wordt deze gebruikt voor bereiding van het geconcentreerde algeninoculum (zie 6.5.2.3).

6.5.2.2 METING VAN OPTISCHE DENSITEIT VAN ALGENSUSPENSIE VIA SPECTROMETRIE: AANDACHTSPUNTEN!

Metingen van optische densiteit (OD) zijn de maat voor hoeveelheid algen in suspensie na spectrofotometrische meting bij 670 nm, gebruik makend van de wegwerp cuvetten met weglengte 10 cm (long cells). Voor elke tube algen is er een specificatie sheet met batch nummer, en overeenkomstig een sheet met de regressievergelijking voor de relatie OD en aantal algen. Indien men een andere methode (of toestel) spectrofotometer gebruikt voor het kwantificeren van algen is het nodig om het gemeten signaal (bijv. de OD-meting, of fluorescentiemeting) te controleren met het tellen van de algen, en als nodig een nieuwe regressievergelijking op te stellen.

In belang van de reproduceerbaarheid van OD-metingen zijn er enkele richtlijnen die zeer strikt moeten nageleefd worden:

- De cuvetten moeten steeds in dezelfde richting in de houder van de spectrofotometer geplaatst worden, nl. met de pijlen op de zijwanden van de cuvet wijzend naar links.
- Men doet steeds een 0-calibratie met de spectrofotometer vooraleer te starten met de OD-metingen van algensuspensies. Deze 0-calibratie gebeurt steeds met dezelfde cuvet, gevuld met algengroei-medium. Men herhaalt deze 0-calibratie regelmatig (minstens om de 10 metingen) tijdens langere meetreeksen van algensuspensies.
- De algensuspensies in elk van de cuvetten, goed afgesloten met afdekplaatje worden elk apart gedurende 10 sec. grondig geschud met omkeren (zie foto's in handleiding van de testkit) voor een homogene verdeling van de algen, vlak voordat de cuvet in de spectrofotometer wordt geplaatst.
- De meting van OD gebeurt voor elke cuvet apart na 10 sec. (na het verdwijnen van eventuele luchtbelletjes en/of schuim) en vooraleer de algen terug uitzakken.

6.5.2.3 BEREIDING VAN EEN GECONCENTREERDE ALGENINOCULUM

- Men zet de spectrofotometer op voor meting van algensuspensie bij 670 nm.
- Neem de cuvet met de markering 'calibration long cell' uit de kit, en vul met 25 ml zoutwateralgen-groeimeedium, en sluit af.
- Plaats de cuvet in de goede richting in de spectrofotometer en doe de 0-calibratie.
- Neem de cuvet (preculturing cell) na 3 dagen incubatie, en schud krachtig om de algensuspensie homogeen te maken.
- Plaats de cuvet in de goede richting in de spectrofotometer en lees OD1 af na ongeveer 10sec.
- Neem de sheet (specifiek voor de algenbatch) voor de grafiek met regressievergelijking OD/N en bereken het aantal algen (N1) overeenkomstig de gemeten OD1 van de stock.
- Het doel is om een geconcentreerd algeninoculum te maken met 1.10^6 algen/ml (= N2).
- Bereken de ratio N1/N2 hetgeen de verdunningsfactor is van de algensuspensie in de meetcuvet om een optische densiteit OD2 te bekomen die correspondeert met een algendensiteit van 1.10^6 algen/ml.
- Neem een maatkolf van 25 ml (indien verdunningsfactor < 2), of een maatkolf van 50 ml (als verdunningsfactor ≥ 2). Neem een gehomogeniseerd substraat uit de cuvet 'preculturing cell', overeenkomstig de gewenste verdunning in de maatkolf, en leng aan met groeimeedium tot aan de maatstreep, sluit af en homogeniseer deze algenstock.
- Verwijder de inhoud van de cuvet 'preculturing cell', spoel met medium, en vul deze met 25 ml van de nieuwe algenstock, sluit af en schud 10 sec. om vervolgens de OD te meten, nl. OD2. Controleer met de regressievergelijking of deze OD2 het verwachte aantal algen 1.10^6 algen/ml (N2) oplevert.

6.5.3 TESTOPLOSSINGEN VAN WATERMONSTER

Het water wordt op kamertemperatuur gebracht, en goed gehomogeniseerd door schudden voor gebruik. De testoplossingen met water worden vers bereid tot maximum 4 uur voor aanvang van de test.

Voor elk van de testoplossingen (en controle met algengroeimeedium) wordt voldoende gemaakt voor volgende testvolumes, en overeenkomstig maatkolven van voldoende volume gebruikt. Bij het testen van alle milieumatrices, vanwege mogelijke interferenties door kleur of turbiditeit zullen steeds cuvetten met testoplossing voor correctie worden ingezet.

- Limiettest : 3 replica's x 25 ml, voor elk van 3 testcondities (CW_{100%}, CW_{50%}, CW_{90%})
- Limiettest met correctie: 3 replica's x 25 ml + 1 replica 25 ml (zonder algen) voor correctie, voor elk van voornoemde 3 testcondities.
- Verdunningsreeks: 3 replica's x 25 ml/testconditie, en volume watermonster nodig voor reeks van 5 diluties met een verdunningsfactor 2.
- Verdunningsreeks met correctie voor elke dilutie watermonster: 3 replica's x 25 ml + 1 replica 25 ml (zonder algen) voor correctie/ test conditie, dus volume watermonster nodig voor reeks van 5 diluties (testconditie) met een verdunningsfactor 2.

6.5.3.1 LIMIETTEST VOOR % EFFECT

Het watermonster wordt standaard in een limiettest geëvalueerd waarbij voor de zoutwateralg 3 testcondities (CW_{100%}, CW_{50%}, CW_{90%}) met elk 3 replica's in vergelijking met een controle conditie (100% algengroeimeedium) opgezet worden. Door het toevoegen van nutriënten stockoplossing bij het watermonster (1.65 ml/100 ml), en een geconcentreerd algeninoculum (1ml/100 ml), overeenkomstig de nutriënten concentratie en algen in het algengroeimeedium (= controle), zal de hoogst geteste concentratie water niet helemaal 100% zijn. Deze afwijking (97.35%) qua geteste concentratie watermonster is beperkt en wordt verwaarloosd, mits de verhouding toegevoegde

nutriënten volume en volume algeninoculum op het totaal volume watermonster overeenkomt met deze in de controle conditie. Deze testconditie wordt hierna gedefinieerd als $CW_{100\%}$. Om enerzijds te voldoen aan de randvoorwaarden geleidbaarheid, en anderzijds de aanwezigheid van verschillende zouten nodig voor optimale groei te garanderen worden er 2 bijkomende testcondities voorzien. Het protocol voorziet toevoeging van NaCl (vast) indien het ruwe watermonster een geleidbaarheid heeft in de range $>3300 - \leq 22000 \mu S/cm$. Toevoeging van NaCl is niet nodig wanneer de geleidbaarheid $> 22000 \mu S/cm$ is. Voor beide scenarios van geleidbaarheid wordt een protocol beschreven.

De bereiding van 3 testoplossingen met watermonster (100% - 50 % en zoutcorrectie 90%), en controle met algengroeimedium voor de limiettest wordt bij wijze van voorbeeld hierna uitgewerkt. Er worden voor elke testconditie 3 replica's voorzien. In geval van correctie voor kleur en/of turbiditeit zullen de testvolumes en metingen overeenkomstig moeten aangepast worden.

Watermonster met geleidbaarheid $>3300 - \leq 22000 \mu S/cm$

Testcondities:

- Neem 1 maatkolf, van 100 ml, markeer C0 (controle)
- Neem 1 maatkolf van 200 ml, markeer $CW_{100\%}$ (= watermonster 100%)
- Neem 1 maatkolf van 200 ml, markeer $CW_{50\%}$ (= watermonster 50%)
- Neem 1 maatkolf van 100 ml, markeer $CW_{90\%}$ (= watermonster 100% met zoutcorrectie door NaCl, en 6 zoutoplossingen om tegemoet te komen aan de groeicondities van de zoutwateralg).

Werkwijze:

- Breng 100 ml zoutwateralgengroeimedium in kolf C0
- Breng 150 ml watermonster in kolf $CW_{100\%}$
- Voeg nu de nodige nutriënten toe bij kolf $CW_{100\%}$: 3 ml van nutriëntenstock A, 0.100 ml van nutriëntenstock B en 0.200 ml van nutriëntenstock C, leng aan met watermonster tot aan de maatstreep voor 200 ml, sluit af en homogeniseer
- Breng 100 ml zoutwateralgengroeimedium in kolf $CW_{50\%}$
- Neem 100 ml af uit de kolf $CW_{100\%}$ en voeg deze toe aan kolf $CW_{50\%}$, sluit af en homogeniseer
- Verwijder vervolgens 100 ml testoplossing uit $CW_{50\%}$
- Breng 75 ml watermonster in kolf $CW_{90\%}$
- Weeg 1 g NaCl af. Voeg deze hoeveelheid toe aan de kolf $CW_{90\%}$, sluit af en meng door krachtig schudden totdat al het zout is opgelost.
- Voeg nu telkens 1.200 ml van de 6 geconcentreerde zoutoplossingen, flesjes 2 t.e.m. 7 toe aan kolf $CW_{90\%}$ (volgens Tabel 4: geconcentreerde zoutoplossingen in Algatoxkit M)
- Voeg vervolgens de nodige nutriënten toe bij kolf $CW_{90\%}$: 1.5 ml van nutriëntenstock A, 0.050 ml van nutriëntenstock B en 0.100 ml van nutriëntenstock C, leng aan met watermonster tot aan de maatstreep voor 100 ml, sluit af en homogeniseer
- Neem 25 ml uit de kolf C0, dit is algengroeimedium voor de 0-calibratie, en markeer als C0 calibratie
- Neem 25 ml uit de kolf $CW_{100\%}$, dit is de testoplossing voor de 0-calibratie, en markeer als $CW_{100\%}$ calibratie
- Neem 25 ml uit de kolf $CW_{50\%}$, dit is de testoplossing voor de 0-calibratie, en markeer als $CW_{50\%}$ calibratie

- Neem 25 ml uit de kolf CW_{90%}, dit is de testoplossing voor de 0-calibratie, en markeer als CW_{90%} calibratie
- In de kolf C0 blijft 75 ml algengroeimeedium, hier wordt 0.75 ml algeninoculum toegevoegd uit de gehomogeniseerde algenstock bereiding (zie 6.5.2.3), zodat de eindconcentratie algen in C0 overeenkomt met 1.10^4 algen/ml, sluit de kolf af en schud voor een homogene algensuspensie.
- In de kolf CW_{100%} blijft 75 ml watermonster met nutriënten, hier wordt ook 0.75 ml algeninoculum toegevoegd uit de gehomogeniseerde algenstock bereiding, zodat de eindconcentratie algen in CW_{100%} overeenkomt met 1.10^4 algen/ml, sluit de kolf af en schud voor een homogene algensuspensie. Dit resulteert in een hoogste testconcentratie van het watermonster van 97.35%.
- In de kolf CW_{50%} blijft 75 ml watermonster met nutriënten, hier wordt ook 0.75 ml algeninoculum toegevoegd uit de gehomogeniseerde algenstock bereiding, zodat de eindconcentratie algen in CW_{50%} overeenkomt met 1.10^4 algen/ml, sluit de kolf af en schud voor een homogene algensuspensie.
- In de kolf CW_{90%} blijft 75 ml watermonster met nutriënten, hier wordt ook 0.75 ml algeninoculum toegevoegd uit de gehomogeniseerde algenstock bereiding, zodat de eindconcentratie algen in CW_{90%} overeenkomt met 1.10^4 algen/ml, sluit de kolf af en schud voor een homogene algensuspensie. Dit resulteert in een hoogste testconcentratie van het watermonster van 90.15%.

Watermonster met geleidbaarheid >22000 μ S/cm

Testcondities:

- Neem 1 maatkolf, van 100 ml, markeer C0 (controle)
- Neem 1 maatkolf van 200 ml, markeer CW_{100%} (= watermonster 100%)
- Neem 1 maatkolf van 200 ml, markeer CW_{50%} (= watermonster 50%)
- Neem 1 maatkolf van 100 ml, markeer CW_{90%} (= watermonster 100% met 6 zoutoplossingen om tegemoet te komen aan de groeicondities van de zoutwateralg)

Werkwijze:

- Breng 100 ml zoutwateralgengroeimeedium in kolf C0
- Breng 150 ml watermonster in kolf CW_{100%}
- Voeg nu de nodige nutriënten toe bij kolf CW_{100%} : 3 ml van nutriëntenstock A, 0.100 ml van nutriëntenstock B en 0.200 ml van nutriëntenstock C, leng aan met watermonster tot aan de maatstreep voor 200 ml, sluit af en homogeniseer
- Breng 100 ml zoutwateralgengroeimeedium in kolf CW_{50%}
- Neem 100 ml af uit de kolf CW_{100%} en voeg deze toe aan kolf CW_{50%}, sluit af en homogeniseer
- Verwijder vervolgens 100 ml testoplossing uit CW_{50%}
- Breng 75 ml watermonster in kolf CW_{90%}
- Voeg nu telkens 1.200 ml van de 6 geconcentreerde zoutoplossingen toe aan kolf CW_{90%} (volgens Tabel 4: geconcentreerde zoutoplossingen in Algatoxkit M)
- Voeg vervolgens de nodige nutriënten toe bij kolf CW_{90%} : 1.5 ml van nutriëntenstock A, 0.050 ml van nutriëntenstock B en 0.100 ml van nutriëntenstock C, leng aan met watermonster tot aan de maatstreep voor 100 ml, sluit af en homogeniseer
- Neem 25 ml uit de kolf C0, dit is algengroeimeedium voor de 0-calibratie, en markeer als C0 calibratie

- Neem 25 ml uit de kolf CW_{100%}, dit is de testoplossing voor de 0-calibratie, en markeer als CW_{100%} calibratie
- Neem 25 ml uit de kolf CW_{50%}, dit is de testoplossing voor de 0-calibratie, en markeer als CW_{50%} calibratie
- Neem 25 ml uit de kolf CW_{90%}, dit is de testoplossing voor de 0-calibratie, en markeer als CW_{90%} calibratie
- In de kolf C0 blijft 75 ml algengroeimedium, hier wordt 0.75 ml algeninoculum toegevoegd uit de gehomogeniseerde algenstock bereiding (zie 6.5.2.3), zodat de eindconcentratie algen in C0 overeenkomt met 1.10^4 algen/ml, sluit de kolf af en schud voor een homogene algensuspensie.
- In de kolf CW_{100%} blijft 75 ml watermonster met nutriënten, hier wordt ook 0.75 ml algeninoculum toegevoegd uit de gehomogeniseerde algenstock bereiding, zodat de eindconcentratie algen in CW_{100%} overeenkomt met 1.104 algen/ml, sluit de kolf af en schud voor een homogene algensuspensie. Dit resulteert in een hoogste testconcentratie van het watermonster van 97.35%.
- In de kolf CW_{50%} blijft 75 ml watermonster met nutriënten, hier wordt ook 0.75 ml algeninoculum toegevoegd uit de gehomogeniseerde algenstock bereiding, zodat de eindconcentratie algen in CW_{50%} overeenkomt met 1.104 algen/ml, sluit de kolf af en schud voor een homogene algensuspensie.
- In de kolf CW_{90%} blijft 75 ml watermonster met nutriënten, hier wordt ook 0.75 ml algeninoculum toegevoegd uit de gehomogeniseerde algenstock bereiding, zodat de eindconcentratie algen in CW_{90%} overeenkomt met 1.104 algen/ml, sluit de kolf af en schud voor een homogene algensuspensie. Dit resulteert in een hoogste testconcentratie van het watermonster van 90.15%.

6.5.3.2 TEST MET EEN VERDUNNINGSREEKS VOOR EC₅₀ BEPALING

Indien van toepassing (bijv. volgens bijzondere voorwaarde in vergunning van het bedrijf) moet het watermonster in een verdunningsreeks getest worden om een EC₅₀ waarde te bepalen. Hiervoor wordt het watermonster verdund met zoutwateralgengroeimedium voor 5 concentraties met een verdunningsfactor 2, van het watermonster in vergelijking met controle (0% watermonster in algengroeimedium). Men zal analoog te werk gaan als bij de limiettest door eerst het onverdunde watermonster aan te vullen met nutriënten, en vast NaCl (10 g/l) indien correctie voor geleidbaarheid nodig is (range > 3300 - ≤ 22000 µS/cm). Men meet en rapporteert de geleidbaarheid van deze testoplossing in de hoogste concentratie. Pas daarna zal de 1:1 verdunning van het watermonster met zoutwateralgengroeimedium gebeuren, en wordt tot slot bij elke verdunning van het watermonster het algeninoculum (1 ml/100 ml) toegevoegd.

Uitzonderlijk is een range finding test nodig, bijv. indien zeer hoge toxiciteit verwacht wordt. Hierbij wordt een verdunningsreeks opgezet met hoge verdunningsfactor, bijv. 10 om de 0-100% effectrange te vinden. Uit deze test wordt de verfijnde testrange (met lagere verdunningsfactor, minimum 2) afgeleid met concentraties van watermonster waarbij minstens 1 punt met 100% effect en een punt met een effect ≤ 10%, en met indien mogelijk meerdere punten op de helling van de concentratie-effect curve om een nauwkeurige EC₅₀ waarde te berekenen. Indien er weinig tot geen effect is (< 50% acute toxiciteit), kan er geen EC₅₀ waarde bepaald worden.

Een voorbeeld van bereiding van testoplossingen voor een dilutiereeks is terug te vinden in de handleiding bij de AlgaltokitM.

6.5.4 BLOOTSTELLING

6.5.4.1 BLOOTSTELLINGSCONDITIES

- Duur: (72 ± 2) u
- Licht-donker cyclus: continue belichting, 3000-4000 lux aan onderzijde van cuvetten, 10000 lux in geval van zijdelingse belichting.
- Dagelijks moeten de algen in de cuvetten manueel geresuspendeerd worden door schudden met omkeren (zie instructies handleiding).
- Temperatuur van testoplossingen: $(20 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ tijdens blootstelling, een temperatuur-gecontroleerde ruimte te gebruiken voor de test. Via een temperatuurlogger in een testbeker (25 ml test vloeistof) naast de testrecipiënten wordt de temperatuur opgevolgd gedurende de blootstellingsperiode.
- Testrecipiënt: polystyreen cuvetten, met afdekplaatje zoals voorzien bij AlgaltokitM (alternatieven zijn toegestaan, zie 6.15.1).
- Testvolume: 25 ml per cuvet (long cell) in de AlgaltokitM.
- Replica's: 3 voor elk van de 3 testcondities in de limiettest, 3 per conditie in de test met verdunningsreeks. Het aantal replica's voor de controle algengroei en de testcondities van het monster zijn gelijk per type test.

6.5.4.2 TRANSFER TESTOPLOSSINGEN NAAR DE TESTRECIPIËNTEN (LONG CELL CUVETTEN)

- Neem het nodige aantal cuvetten (inclusief afdekplaatje), 18 per verzamelbakje, de plastic strip en rubbers om samen te houden. Markeer de cuvetten voor de verschillende testcondities, met nummering voor de replica cuvetten/conditie.
- Neem de bereide testoplossingen met algen C0, en CW, homogeniseer de oplossingen door schudden en vul de cuvetten telkens met 25 ml, met voor een limiettest 3 cuvetten per conditie x 3 condities ($\text{CW}_{100\%}$, $\text{CW}_{50\%}$ en $\text{CW}_{90\%}$) en controle (C0). Dus totaal 12 cuvetten voor een limiettest, en 18 cuvetten voor een dilutiereeks (3x 5 concentraties watermonster + 3 x controle).
- Neem de oplossingen (zonder algen) van controle (C0-calibratie), en van watermonster (voor CW-correctie). Voor elke testconditie in de limiettest, $\text{CW}_{100\%}$, $\text{CW}_{50\%}$ en $\text{CW}_{90\%}$ is er een overeenkomstige testoplossing zonder algen voor correctie. Indien men met een dilutiereeks werkt, zal er voor elke concentratie van watermonster een oplossing zijn voor correctie. Vul voor elk van de condities 1 cuvet met 25 ml zoutwateralgengroei-medium (C0-calibratie) of van de testoplossing (CW-correctie).
- Al de gevulde cuvetten worden afgedekt en at random verdeeld voor testcondities, en replica's over verschillende verzamelbakjes. Plaats de cuvetten volgens de pijl op de zijwand in dezelfde richting. Voor de incubatie worden de afdekplaatjes voor elk van de cuvetten deels opgelicht, en men schuift aan de halfopen zijde de plastic strip tussen de cuvetten en het afdekplaatje zodat er open ruimte is voor gasuitwisseling zodat pH variatie beperkt blijft.
- In lijn met ISO 10253, wordt er uitgegaan van een nominale algendensiteit bij start van de test (zoals kan bepaald worden op basis van OD2 meting en 1:100 verdunning), en die tussen $0.5 \cdot 10^4$ algen/ml moet liggen. Er zal geen spectrofotometrische meting worden uitgevoerd op $T=0$.
- De verzamelbakjes worden nu voor 72 u incubatie, bij juiste temperatuur en lichtcondities in de incubator of gethermostatiseerde kamer gezet. De cuvetten worden dagelijks manueel geschud om de algensuspensie te homogeniseren.
- De resterende testoplossingen in de maatkolven C0 en CW, met algeninoculum worden gebruikt voor meting van pH en geleidbaarheid bij start van de test in alle testoplossingen, zowel voor limiettest als bij een verdunningsreeks. **Indien er geen overmaat van de testoplossingen voorzien werd, dan kan men mits de nodige voorzorgen qua cross-**

contaminatie, voor metingen bij begin van de test de testoplossingen gebruiken die voorzien worden om de calibratie of staalcorrectie te doen voor elk van de testcondities.

6.5.5 EVALUATIE VAN TEST

- Zowel in de limiettest als bij een verdunningsreeks wordt de optische densiteit enkel na (72 ± 2) u afgelezen.
- Zet de spectrofotometer op en neem de verzamelbakjes met cuvetten uit de incubator.
- Zorg ervoor bij de meting dat de cuvetten steeds in de goede richting (pijl naar links) in de meetcel staan.
- Begin met een 0-calibratie met de cuvet met zoutwateralgengroeimedium (zonder algen).
- Schud elk van de controle cuvetten gedurende 10 sec. en meet na ongeveer 10 sec. de OD voor elk van de replica's van de controlegroep en registreer op laboformulier.
- Neem de cuvet voor CW-correctie (hoogste concentratie watermonster zonder algen), en doe hiermee een 0-calibratie. Schud vervolgens de replica's van de corresponderende testoplossing watermonster met algen, en meet na ongeveer 10 sec. op de spectrofotometer. Indien een dilutiereeks getest wordt, doe per dilutie eerst een 0-calibratie met de testoplossing zonder algen, en vervolg met de replica cuvetten met algen voor de corresponderende concentratie van testoplossing. Registreer al de gemeten OD-waarden.
- De testvloeistof van de replica cuvetten met algen wordt gepoold voor meting van de pH. De pH meting wordt uitgevoerd voor de controle conditie en elke testconditie van het watermonster.
- De temperatuurregistraties tijdens de incubatieperiode worden afgelezen voor min. en max. temperatuur die gerapporteerd wordt.

6.5.6 BEREKENING VAN RESULTAAT VOOR GROEI-INHIBITIE NA 72 U

6.5.6.1 BEREKENING BIOMASSA OPBRENGST EN GROEISNELHEID

Er worden 2 eindpunten berekend op basis van evaluaties: opbrengst (biomassa) en groeisnelheid, maar enkel de parameter groeisnelheid wordt voor beoordeling van water gerapporteerd. De berekende toename van biomassa gedurende (72 ± 2) u wordt gehanteerd als geldigheids criterium voor de test.

Microbiotests beschikt over een rekentemplate beschikbaar voor verwerking van data op basis van uitgevoerde OD-metingen, en de regressievergelijking voor relatie OD versus aantal algen voor de gebruikte algenbatch. De berekeningen zijn gebaseerd op volgende formules.

Groeisnelheid

De gemiddelde specifieke groeisnelheid voor een specifieke periode is de logaritmische toename in biomassa: voor elke replica van respectievelijk de controlegroep, en een concentratie van watermonster wordt deze specifieke groeisnelheid μ berekend als volgt:

$$\mu_{i-j} = (\ln BE_j - \ln BE_i) / (t_j - t_i)$$

Waarin: BE = biomassa equivalent
t = tijdstip van de meting (t in dagen)
i-j = tijdsperiode waarbinnen de specifieke snelheid berekend wordt

De specifieke groeisnelheid per replica wordt gemeten voor de totale periode (0 (=i) – 3 (=j) dagen).

Bereken voor de replica's van de controlegroep, een gemiddelde groeisnelheid, μ_c .

Bepaal vervolgens voor elke replica van de testoplossingen met watermonsters de procentuele inhibitie van groeisnelheid als functie van de gemiddelde groeisnelheid van de controle, μ_c , met volgende formule:

$$\%I_{ra} = (\mu_c - \mu_a) \times 100 / \mu_c$$

waarin : μ_c = gemiddelde van specifieke groeisnelheid in controle
 μ_a = specifieke groeisnelheid in replica van concentratie a
 I_{ra} = % inhibitie van de groeisnelheid voor replica van concentratie a

Bereken voor de replica's van elke testconditie van het watermonster, een gemiddelde groeisnelheid, I_{ra} relatief t.o.v. de controle conditie.

Opbrengst biomassa

De opbrengst van biomassa, Y voor elke replica van de controlegroep en testoplossing wordt berekend als het verschil tussen biomassa op 72 u en op t=0 u. In laatste geval wordt de nominale concentraties voor biomassa gebruikt. De OD-waarden (biomassa equivalent) worden omgerekend in aantal algen.

$$Y_{i-j} = BE_i - BE_j$$

Waarin: BE = biomassa equivalent
i-j = tijdsperiode, met 0 (=i) – 3 (=j) dagen.

Een gemiddelde biomassa opbrengst wordt berekend voor de controlegroep Y_c , en de toename van biomassa in elke replica van de testoplossingen (Y_a) wordt uitgedrukt als % van het gemiddelde van de controlegroep via volgende formule:

$$\%I_{ba} = (Y_c - Y_a) \times 100 / Y_c$$

Waarin: Y_c = gemiddelde van biomassa toename in controle
 Y_a = biomassa toename in replica van testoplossing a
 $\%I_{ba}$ = % inhibitie van de biomassa voor replica van concentratie a

Bereken voor de replica's van elke testconditie van het watermonster, een gemiddelde procentuele biomassa I_{ba} relatief t.o.v. controle groep.

6.5.6.2 LIMIETTEST VOOR % INHIBITIE GROEISNELHEID

De aflezing van OD op (72 ± 2) u voor elke replica van de ~~hoogste~~ 3 testcondities ~~een~~tratie van watermonster, met omrekening naar aantal algen per replica, resulteert in een groeisnelheid in vergelijking met de groeisnelheid voor de controle replica's. De inhibitie van groeisnelheid wordt uitgedrukt als gemiddelde van inhibitie van groeisnelheid van de individuele replica's, relatief ten opzichte van de gemiddelde groeisnelheid van controlegroep.

Rapportage van het % effect voor elk van de 3 testcondities in de limiettest als gemiddelde van de % inhibitie van groeisnelheid van de replica's.

6.5.6.3 TEST MET EEN VERDUNNINGSREEKS VOOR EC_{50} BEPALING

- Per replica van elke concentratie watermonster en controle wordt de groeisnelheid over de periode van (72 ± 2) u berekend.

- De gemiddelde groeisnelheid van de controlegroep wordt berekend op basis van groeisnelheid van alle controle replica's.
- Het % inhibitie van de groeisnelheid, als gemiddelde van de replica's per testconcentratie van het watermonster in de verdunningsreeks, wordt uitgedrukt als functie van de gemiddelde groeisnelheid in de controlegroep. Dit resulteert in een % effect voor elke dilutie van watermonster.
- De resultaten van % effect (Y-as) voor inhibitie algengroei worden grafisch voorgesteld als functie van de concentratie (% verdunning) van het water (X-as). Mits een goed concentratie-effect verband kan een E_rC_{50} waarde berekend worden voor de inhibitie van groeisnelheid.
- Een E_rC_{50} waarde kan afgeleid of berekend worden op verschillende manieren (grafische interpolatie of statistische methoden, als probit analyse). Indien twee opeenvolgende concentraties met een onderlinge concentratieverhouding van 2, respectievelijk 0 en 100% effect veroorzaken, is het voldoende de E_rC_{50} te situeren tussen deze beide concentraties.

6.5.7 KWALITEITSCONTROLE

6.5.7.1 EERSTELIJSCONTROLE

Beslissingscriterium voor geldigheid van de test:

- De toename van biomassa in de controle gedurende (72 ± 2) u moet minstens een factor 16 zijn.
- De variatie van de groeisnelheid tussen de controle replica's over de periode van 72 u mag niet groter zijn dan 7% ($n=3$, limiettest), en niet groter dan 10% ($n=3$, test verdunningsreeks).
- De pH in de controle conditie mag maximum 1.5 pH eenheid verschillen tussen begin en einde van de test.

Deze waarden worden bijgehouden in limietkaarten.

Herkomst en kwaliteit van testorganismen:

- Bij het gebruik van algen uit de AlgatoxkitM wordt steeds het batchnummer op het laboformulier vermeld. De gegevens over de gevoeligheid van elke gebruikte batch in de vorm van een E_rC_{50} en E_bC_{50} voor referentiestof, uitgevoerd door MicroBioTests worden bijgehouden in een databestand.
- Bij gebruik van algen uit een continue labocultuur is een logboek ter beschikking om het onderhoud met de aankoop van algen met identificatie (bijv. bij UK, Culture Collection of Algae and Protozoa, <https://www.ccap.ac.uk/>), het gebruikte groeimedium, passages en condities van onderhoud op te volgen.

6.5.7.2 TWEDELIJSCONTROLE

De methode toegepast in het labo, hetzij vertrekkende van algen uit de kits, hetzij met algen uit continue cultuur, wordt op de hierna vermelde tijdstippen uitgevoerd met een positieve controle (Kaliumbichromaat) waarvoor de E_rC_{50} bepaald wordt na 72 u voor een dilutiereeks van 32 tot 3.2 mg/l (voor details zie handleiding AlgatoxkitM).

- De E_rC_{50} wordt geregistreerd in een statistische controlekaart, naast deze van de corresponderende batch voor de AlgatoxkitM, indien van toepassing.
- De minimale frequentie voor een intralaboratorium test met positieve controle is als volgt:
 - o Bij wekelijkse uitvoering van de test: driemaandelijks positieve controle testen.
 - o Bij maandelijkse uitvoering: zesmaandelijks een positieve controle test.
 - o Bovendien zal ieder van de betrokken uitvoerders minstens 1 maal per jaar een test met positieve controle uitvoeren.

6.5.7.3 DERDELIJSCONTROLE

Minstens 1x per jaar deelnemen aan een externe ringtest indien georganiseerd.

6.5.7.4 OPVOLGING VAN AFWIJKINGEN

Indien de E_rC_{50} resultaten van de positieve controles niet voldoen aan de statistische grenzen voor algen uit eigen kweek, of de door MicroBioTests aangegeven range op de specificatie sheet van de batch algen, of als één of meer van de geldigheidscriteria voor de controle niet voldoen, dan dient een analyse van de oorzaak en reikwijdte uitgevoerd te worden. Indien hieruit blijkt dat bepaalde resultaten onbetrouwbaar zijn mogen deze niet gerapporteerd worden en dient een nieuwe bemonstering te worden uitgevoerd van de geteste watermonsters. Indien van toepassing dient ook de impact op eerder gerapporteerde resultaten te worden nagegaan.

6.5.8 RAPPORTERING

Het testrapport bevat:

- De identificatie van het monster, gegevens over monstername, datum van testuitvoering met monster, resultaten van meting van de randvoorwaarden en aanpassingen, indien van toepassing.
- Verwijzing naar de betreffende WAC-methode voor ecotoxiciteit, en WAC-methode voor bepaling van fysicochemische parameters. Gegevens over het testorganisme (naam, herkomst, batch), motivatie voor keuze van testorganisme a.d.h.v. gemeten randvoorwaarde (geleidbaarheid) en type test (limiet, of verdunningsreeks).
- Resultaten:
 - o Fysicochemische parameters van testoplossingen en controle op T=0 en T=72u
 - o % effect voor inhibitie van groeisnelheid na (72 ± 2) u in controle en watermonster bij 3 testcondities $CW_{100\%}$, $CW_{50\%}$ en $CW_{90\%}$ (limiettest) of
 - o E_rC_{50} , met methode van berekening, voor inhibitie van groeisnelheid na (72 ± 2) u bij verdunningsreeks van watermonster, met % effect in de hoogst geteste concentratie van het watermonster en grafiek voor concentratie-effect op 72u.
- Opmerkingen en afwijkingen.

7 REFERENTIES

- Handleiding AlgatoxkitF: Freshwater toxicity test with Microalgae, Standard operating procedure.
- Handleiding AlgatoxkitM: Marine toxicity test with Microalgae, Standard operating procedure.
- ISO 8692 (2012): Water quality: freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae
- ISO 10253 (2016): Water quality: marine algal growth inhibition tests with *Skeletonema* sp. and *Phaeodactylum tricornutum*.
- OECD201 (2011). OECD guideline for testing of chemicals. Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test.
- Postma J.F., De Valk S., Dubbeldam M., Maas J.L., Tonkes M., Schipper C.A. & B. J. Kater (2002). Confounding factors in bioassays with freshwater and marine organisms. *Ecotoxicology and environmental safety* 53, 226-237.

BIJLAGE A: LABOCULTUUR VAN ALGEN, EN BEREIDEN VAN PRECULTUUR

A.1 Kweek van algen

Alle handelingen worden met steriel materiaal uitgevoerd om besmetting met bacteriën of andere algen te voorkomen. Het is van wezenlijk belang dat de culturen slechts één algensoort bevatten.

De kweek bestaat uit kleine algenculturen die regelmatig (meestal eens per 2 weken, afhankelijk van de groei) in een vers medium worden overgebracht (passage) en die dienen als entmateriaal voor algentesten. Het medium voor de kweek is hetgeen welk aanbevolen wordt voor een specifiek algensoort door de leverancier van algen, de UK Culture Collection of Algae and Protozoa, CCAP (<https://www.ccap.ac.uk/>). Bij ontvangst van algen en routinepassages worden de voorraadculturen gekweekt in erlenmeyers met medium.

Bij de passage wordt 4 ml oude cultuur overgebracht in een erlenmeyer met 100 ml vers medium zodat de beginconcentratie ongeveer 50 keer kleiner is dan in de oude cultuur. Het oude recipiënt waaruit het inoculum genomen werd, wordt daarna afgevoerd. Op alle kweekrecipiënten wordt de code van de algensoort aangebracht, en het passagenummer (dat dus eigenlijk een maat is voor de ouderdom van de batch). De kweek wordt opgevolgd in een logboek. In dit logboek wordt de datum genoteerd waarop de algen toekomen in het labo en alle passages. De grootte van de kweek kan worden aangepast aan de behoeften.

De culturen worden continu belicht bij kamertemperatuur. De erlenmeyers staan op een schudtafel en worden regelmatig geschud. Zij worden regelmatig op hun kleur beoordeeld: bij twijfel of afwijking wordt een staaltje onder de microscoop bekeken. Indien blijkt dat er problemen zijn met de cultuur wordt eventueel een nieuwe batch besteld bij CCAP. Via extra verversingen kan een aangetaste batch soms toch gered worden en terug normaal groeien. Deze batches mogen dan verder gebruikt worden voor testen. Algenculturen die misvormde of afwijkende cellen bevatten of die bacterieel/mycotisch besmet zijn, mogen niet verder gebruikt worden en moeten onmiddellijk verwijderd worden.

A.2 Opzetten van precultuur

De bedoeling van de voorcultuur is voldoende algen te krijgen voor het enten van de testrecipiënten. De algen zouden in hun exponentiële groeifase moeten zijn bij het begin van de test, zodat een optimale groeicurve bekomen wordt in de controles tijdens de 72 u blootstelling in de test. De precultuur wordt geïncubeerd met het algengroeimedium dat gebruikt zal worden voor de test. Doorgaans wordt een incubatieperiode van ongeveer drie tot maximaal 4 dagen in acht genomen:

d.w.z. op vrijdag passeren om maandag of dinsdag een test te kunnen opstarten.

BIJLAGE B: ALGENGROEIMEDIUM (CONTROLE) EN VERDUNNINGSWATER VOOR DE ZOETWATERALGEN TEST

B.1 Bereiding van stockoplossingen van nutriënten

Voor de bereiding van stockoplossingen met zouten worden reagentia met gekende analytische zuiverheid gebruikt zoals deze in Tabel 5 (uit ISO 8692, 2012).

De stockoplossingen 1, 2, 3 en 4 worden gelabeld en gedateerd. Deze oplossingen worden gesteriliseerd, hetzij door membraanfiltratie bij 0.22 µm ofwel door autoclaveren bij (120 ± 2)°C gedurende 15 minuten. Enkel stockoplossing 4 mag niet in de autoclaaf, en zal gefiltreerd worden voor sterilisatie. De gesteriliseerde stockoplossingen kunnen gedurende 3 maanden donker en koel bewaard worden bij (5 ± 3)°C.

Tabel 5: Samenstelling van nutriënten in stock- en testoplossingen voor test met zoetwateralgen

Stock solution	Nutrient	Mass concentration in stock solution	Final mass concentration in test solution
1: Macronutrients	NH ₄ Cl	1,5 g/l	15 mg/l (N: 3,9 mg/l)
	MgCl ₂ ·6H ₂ O	1,2 g/l	12 mg/l (Mg: 2,9 mg/l)
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	1,8 g/l	18 mg/l (Ca: 4,9 mg/l)
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	1,5 g/l	15 mg/l (S: 1,95 mg/l)
	KH ₂ PO ₄	0,16 g/l	1,6 mg/l (P: 0,36 mg/l)
2: Fe-EDTA	FeCl ₃ ·6H ₂ O	64 mg/l	64 µg/l (Fe: 13 µg/l)
	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	100 mg/l	100 µg/l
3: Trace elements	H ₃ BO ₃ ^a	185 mg/l	185 µg/l (B: 32 µg/l)
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	415 mg/l	415 µg/l (Mn: 115 µg/l)
	ZnCl ₂	3 mg/l	3 µg/l (Zn: 1,4 µg/l)
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	1,5 mg/l	1,5 µg/l (Co: 0,37 µg/l)
	CuCl ₂ ·2H ₂ O	0,01 mg/l	0,01 µg/l (Cu: 3,7 ng/l)
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	7 mg/l	7 µg/l (Mo: 2,8 µg/l)
4: NaHCO ₃	NaHCO ₃	50 g/l	50 mg/l (C: 7,14 mg/l)
^a H ₃ BO ₃ can be dissolved by the addition of 0,1 mol/l NaOH.			

B.2 Bereiding van zoetwateralgengroeimedium, of verdunningsmedium

Voor de bereiding van 1 liter groeimedium:

- Vul een maatkolf met 800 ml gedemineraliseerd water
- Voeg 10 ml toe van stockoplossing 1, sluit af, en homogeniseer
- Voeg 1 ml van stockoplossing 2, 1 ml van stockoplossing 3 en 1 ml van stockoplossing 4 toe, sluit af en homogeniseer
- Leng aan tot 1 liter met gedemineraliseerd water.

Laat het medium in evenwicht komen met de lucht door het overnacht te laten staan, of belucht gedurende 30 min. en meet daarna de pH, en stel die bij tot **8.1 ~~7.5~~ ± 0.2**, met 1N HCl or 1N NaOH. Het medium is nu klaar voor gebruik.

BIJLAGE C: ALGENGROEIEMEDIUM (CONTROLE) EN VERDUNNINGSWATER VOOR DE ZOUTWATERALGEN TEST

X.1 Bereiding synthetisch zoutwater

Voor de bereiding van synthetisch zeewater worden zoutenoplossingen gemaakt met reagentia van gekende analytische zuiverheid gebruikt. Synthetisch zeewater wordt gemaakt met de verschillende zouten en respectievelijke hoeveelheden zoals opgelijst in Tabel 6.

De oplossing wordt gelabeld en gedateerd, en wordt gefiltreerd (0.45 µm) voor gebruik. Deze bereiding van synthetisch zeewater wordt donker en koel (5 ± 3)°C bewaard worden gedurende 6 maanden.

Tabel 6: Samenstelling van zouten met hun concentraties in synthetisch zeewater (volgens ISO 10253, 2016).

Salt	Concentration of salt in synthetic sea water
	g/l
NaCl	22
MgCl ₂ ·6H ₂ O	9,7
Na ₂ SO ₄ (anhydrous)	3,7
CaCl ₂ (anhydrous)	1,0
KCl	0,65
NaHCO ₃	0,20
H ₃ BO ₃	0,023

C.2 Bereiding stockoplossing van nutriënten en verdunningen voor bereiding van zoutwatalgenmedium

De zouten die gebruikt worden voor de bereiding van nutriënten stockoplossingen 1, 2 en 3 (zie Tabel 7) zijn van gekende analytische zuiverheid.

Er worden 3 stockoplossingen bereid met hoeveelheden zoals in tabel. De 3 nutriëntenstockoplossingen worden gesteriliseerd via filtratie (0.2 µm). Alternatief kunnen stockoplossingen 1 en 3 ook door autoclaveren bij 120°C gedurende 15 min. gesteriliseerd worden. De stocks kunnen maximum 2 maanden bewaard worden in het donker bij 4°C.

X.3 Bereiding van zoutwatalgenmedium, of verdunningswater

Gebruik het synthetisch zeewater, om de stocks van nutriënten te verdunnen.

Voor de bereiding van 1 liter zoutwatalgengroeimedium:

- Vul een maatkolf met 900 ml synthetisch zeewater (zie C.1).
- Voeg 15 ml toe van nutriëntenstockoplossing 1, sluit af, en homogeniseer
- Voeg 0.5 ml van stockoplossing 2 en 1 ml van stockoplossing 3 toe in de kolf, sluit af en homogeniseer
- Leng aan tot 1 liter met synthetisch zeewater.

Controleer de pH en stel bij tot pH 8.0 ± 0.2 met HCl of NaOH.

Label de oplossing van zoutwatalgengroeimedium, die 1 maand in het donker en koel bij (5 ± 3)°C kan bewaard worden.

Tabel 7: Samenstelling van nutriënten in stock- en testoplossingen voor bereiding van zoutwateralgengroeimeidium (volgens ISO 10253, 2016).

Nutrient	Concentration in stock solution	Final concentration in test solution
Stock solution 1		
FeCl ₃ ·6H ₂ O	48 mg/l	149 µg/l (Fe)
MnCl ₂ ·4H ₂ O	144 mg/l	605 µg/l (Mn)
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	45 mg/l	150 µg/l (Zn)
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,157 mg/l	0,6 µg/l (Cu)
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,404 mg/l	1,5 µg/l (Co)
H ₃ BO ₃	1 140 mg/l	3,0 mg/l (B)
Na ₂ EDTA	1 000 mg/l	15,0 mg/l
Stock solution 2		
Thiamin hydrochloride	50 mg/l	25 µg/l
Biotin	0,01 mg/l	0,005 µg/l
Vitamin B ₁₂ (cyanocobalamin)	0,10 mg/l	0,05 µg/l
Stock solution 3		
K ₃ PO ₄	3,0 g/l	3,0 mg/l; 0,438 mg/l P
NaNO ₃	50,0 g/l	50,0 mg/l; 8,24 mg/l N
Na ₂ SiO ₃ ·5H ₂ O	14,9 g/l	14,9 mg/l; 1,97 mg/l Si

Ecotoxiciteitstest met bacterie: acute toxiciteit voor de luminescente bacterie (*Aliivibrio fischeri*)

INHOUD

1	TOEPASSINGSGEBIED	3
2	Principe van de test	3
2.1	<i>Eindpunt voor acute toxiciteit bij bacterie</i>	3
2.2	<i>Limiettest</i>	3
2.3	<i>Verdunningsreeks</i>	3
3	Definities	4
4	Acute toxiciteit voor de luminescente bacterie (<i>Aliivibrio fischeri</i>)	4
4.1	<i>Inleiding</i>	4
4.2	<i>Apparatuur en materiaal</i>	5
4.3	<i>Reagentia en oplossingen</i>	5
4.4	<i>Watermonster</i>	5
4.5	<i>Werkwijze</i>	7
4.5.1	<i>Algemeen</i>	7
4.5.2	<i>Protocol 81.9% basic test voor limiettest en verdunningsreeks</i>	7
4.5.3	<i>Correctie voor kleur en/of turbiditeit</i>	9
4.5.4	<i>Kwaliteitscontrole</i>	9
4.5.5	<i>Rapportering</i>	10
5	REFERENTIES	11

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de werkwijze om de acute toxiciteit voor de zoutwaterbacterie *Allivibrio fischeri* (vroeger ook *Vibrio fischeri* of *Photobacterium fischeri* genoemd) te evalueren. Deze test heeft tot doel de acute toxiciteit voor het trofische niveau van micro-organismen (reducenten) in te schatten.

De procedure is van toepassing voor

- Diverse waterige milieumatrices: afval-, oppervlakte-, drink- en grondwater. Waterige oplossingen met chemische stoffen (zoals voor eerstelijnscontrole), mits deze goed oplosbaar zijn in water, of in oplossing blijven als stabiele suspensie of via dispersie, of met gebruik van een solvent.

Het testorganisme is een mariene, luminescente bacterie. Dit wil zeggen dat bij testen op watermonsters met een geleidbaarheid lager dan 28 mS/cm een correctie zal voorzien worden met toevoeging van een geconcentreerde zoutoplossing.

2 PRINCIPE VAN DE TEST

2.1 EINDPUNT VOOR ACUTE TOXICITEIT BIJ BACTERIE

De inhibitie van lichtemissie wordt gemeten in een batch cultuur van bacteriën, die blootgesteld wordt aan het water, de hoogst mogelijke concentratie al of niet met verdunningen. Het testorganisme is de mariene bacterie *Allivibrio fischeri*, een bioluminescente bacterie. De sterkte van het luminescent signaal is een maat voor de fysiologische en metabole activiteit van de bacterie populatie. De verandering van luminescentie door toxiciteit van het watermonster wordt gemeten na een bepaalde contacttijd (30 minuten¹) aan het teststaal, en het % effect wordt gecorrigeerd ten opzichte van de verandering (= spontane daling) van het luminescentie signaal in de controle (of blanco).

2.2 LIMIETTEST

Voor het meten van de toxiciteit van waters wordt standaard een limiettest uitgevoerd op de hoogst mogelijke concentratie van het watermonster. Het % effect na 30 minuten blootstelling aan de hoogst geteste concentratie van het watermonster wordt gerapporteerd, en dit als % effect relatief t.o.v. controle medium.

2.3 VERDUNNINGSREEKS

Uitzonderlijk worden de testen uitgevoerd op een verdunningsreeks van het water. Dit kan van toepassing zijn wanneer dit vereist is in het kader van de bijzondere voorwaarde in een vergunning

¹ Metingen kunnen ook na 5' en 15 ' uitgevoerd worden, maar niet vereist voor rapportage van resultaat acute toxiciteit. Additionele aflezing in overleg met de klant.

of bij verder onderzoek naar oorzaken van acute toxiciteit (TIE-Toxiciteit identificatie & evaluatie). Ook bij het testen van een referentiestof, als deel van kwaliteitscontrole, zal de bacterietest in een verdunningsreeks opgezet worden. Daarbij wordt het watermonster (of de referentiestof) in een reeks van minstens 4 concentraties getest, naast de controle conditie. De concentratiereeks (# concentraties, en verdunningsfactor) van het water of de referentiestof wordt zodanig gekozen dat de hoogste concentratie ongeveer 100% effect oplevert, en de laagste concentratie 0% effect (of niet significant verschillend van de controle). Dit laat toe een grafiek met concentratie-effect te genereren, alsook een EC₅₀-waarde te berekenen die de concentratie van het water of referentiestof geeft waarbij 50% van de testorganismen acute toxiciteit ondervinden. Bij deze test met een verdunningsreeks kan eveneens het % effect, zoals in de limiettest, bepaald worden voor het water met de hoogste testconcentratie van de reeks.

3 DEFINITIES

Volgende definities zijn van toepassing:

- EC₅₀ (50% effect concentratie): dit is de concentratie van een watermonster of teststof waarbij 50 % inhibitie van de lichtsterkte t.o.v. de controle wordt waargenomen.
- Limiettest: in de test wordt 1 concentratie van het water (nl. de hoogst mogelijke concentratie van het water) geëvalueerd in vergelijking met controle medium.
- Randvoorwaarden: voor het testmonster geldende grenzen voor fysicochemische parameters, zoals pH, O₂, geleidbaarheid waarbij er geen effect op (acute) toxiciteit wordt verwacht ten opzichte van de controle conditie.
- Referentiestof: een referentiestof kan worden getest om aan te tonen dat de gevoeligheid van de geteste soort onder laboratoriumomstandigheden niet in belangrijke mate veranderd is en/of de uitvoering van de test voldoet aan vooropgestelde criteria qua te verwachten toxische effecten voor de referentiestof (ook positieve controle).
- Toxiciteit identificatie en evaluatie (TIE): onderzoek naar de oorzaken van toxiciteit door watermonsters te onderwerpen aan diverse behandelingen (filtratie, actieve kool, organische extractie) met het doel de toxiciteit toe te wijzen aan bepaalde fracties uit deze behandelingsstappen.

4 ACUTE TOXICITEIT VOOR DE LUMINESCENTE BACTERIE (*ALIIVIBRIO FISCHERI*)

4.1 INLEIDING

Voor deze bacteriële test is de ISO 11348 richtlijn de basis.

De testuitvoering hier beschreven maakt gebruik van het Microtox® toestel, en commercieel verkrijgbare reagentia en gevriesdroogde bacteriën. Het toestel bestaat uit een gethermostatiseerde testblok op (15 ± 1)°C voor 30 cuvetten, een gethermostatiseerde cel voor de bewaring van de bacteriën bij (5.5 ± 1)°C, en een gethermostatiseerde meetcel op (15 ± 1)°C voor 1 cuvet. Het toestel kan onafhankelijk werken, en de meetresultaten voor luminescentie komen op een display om te registreren en apart te verwerken. Het toestel kan eveneens verbonden worden met een computer en de geschikte software (bijv. MicrotoxOmniTM Software), waarbij de meetgegevens meteen verwerkt worden volgens standaard templates. Voor specificaties van toestel en software doet men beroep op de corresponderende handleidingen (bijv. Microtox Manual). Gelijkaardige varianten van toestellen voor luminescentie metingen, met gethermostatiseerde incubatiecellen en meetcellen zijn mogelijk.

Een correcte testuitvoering vergt uiterste nauwkeurigheid in het pipetteren van kleine volumes: gebruik precisiemateriaal en voer de acties correct uit met geverifieerde pipetten. Repeteerpipetten voor kleine volumes kunnen helpen bij reproduceerbare transfer van bacteriesuspensie.

4.2 APPARATUUR EN MATERIAAL

- Zuurstofmeter voor bepaling van zuurstof conform WAC/III/A/008
- Thermometer
- pH-meter voor pH meting conform WAC/III/A/005
- Geleidbaarheidsmeter voor meting geleidbaarheid conform WAC/III/A/004
- ~~Uitrusting en materiaal voor de bepaling van chloriden en sulfaten conform WAC-procedure WAC/III/C.~~
- Materiaal en apparatuur voor de bepaling van ammonium.
- Analytische balans, aflezing tot 0.1 mg
- Beluchting systeem (olie-vrij)
- Pipetten en toebehoren
- Repeteerpipet, met bijhorende tips voor kleine volumes (bijv. 10 µl)
- Standaard labo glasmateriaal: maatkolven, maatcilinders voor bereiding van testoplossing referentiestof.
- Recipiënten voor meting van fysicochemische parameters.
- Klok, met chronometer
- Glazen cuvetten, voor luminometer
- Luminometer met gethermostatiseerde plaatsen voor cuvetten, nl. $(15 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ voor meetcuvetten en $(5.5 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ voor bacteriesuspensie, eventueel met bijhorende software (meetprogramma & berekeningen).
- Spectrofotometer

4.3 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- Gelyofiliseerde bacteriën), bewaren op -20°C .
- Reconstitutie oplossing (ontdooivloeistof voor de bacteriën), bewaren in koelkast.
- Diluent (verdunningsvloeistof), bewaren in koelkast.
- Osmotic Adjusting Solution (OAS) (22 % NaCl oplossing), bewaren in koelkast.
- Fenolstandaard (100 mg/l), bewaren in koelkast, donkere fles, 6 maanden houdbaar.
- Gedemineraliseerd water ($< 10 \mu\text{S/cm}$).
- NaOH, 1N en HCl, 1N

4.4 WATERMONSTER

Voor de monsternamen en houdbaarheid wordt verwezen naar respectievelijk WAC/I/A/003, WAC/I/A/004 en WAC/I/A/010.

Bij gebruik voor fysicochemische metingen om de randvoorwaarden te controleren wordt een gehomogeniseerd en representatief deelstaal van het watermonster genomen, en op kamertemperatuur gezet.

Voor start van de test worden de volgende fysicochemische parameters bepaald: geleidbaarheid, ~~chloriden, sulfaten~~, pH, zuurstof en ammonium. Voor de meeste van deze parameters zijn er aanvaardbare ranges gedefinieerd waarbij er geen effect in de vorm van acute toxiciteit voor de bacterie zal optreden (Tabel 1, Postma et al. 2002)

Tabel 1: Randvoorwaarde voor fysicochemische parameters in watermonsters voor bacterie

Parameter	pH	Zuurstof (mg/l)	Geleidbaarheid ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	~~Chloride~~ (~~mg/l~~)	~~Sulf~~ ~~aat~~ (~~mg~~ ~~/l~~)	Ammonium ($\text{mg}/\text{l NH}_4^+$, bij pH 8)
Bacterie, <i>Allivibrio fischeri</i>	6.0 – 8.5	≥ 3	28000 - 48000	~~< 20000~~	~~g.d.~~	< 1000

g.d.: geen data

De test wordt uitgevoerd met een mariene bacterie waarvoor een geleidbaarheid van 28000 - 48000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ optimaal is. Daarom zal bij de testuitvoering met waters van zoet - of brakwater kwaliteit met een geleidbaarheid lager dan 28 mS/cm gecorrigeerd worden met zouttoevoeging (via toevoeging van OAS-oplossing, of vast NaCl in het watermonster, zie **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**), ~~en dus eveneens aanpassing van het chloride-gehalte.~~ Deze correctie wordt vermeld bij rapportage. Indien de geleidbaarheid in het watermonsters de bovengrens voor de bacterie overschrijdt, dan zal in een limiettest het watermonster verdund worden tot 50% als hoogste concentratie (geen correctie met NaCl) en wordt het % effect bij die concentratie afgelezen. Bij het testen van een verdunningsreeks zal het watermonster zodanig verdund worden dat de hoogste concentratie van de reeks overeenkomt met een geleidbaarheid van 48000 $\mu\text{S}/\text{cm}$, en van daaruit 1:1 verder verdund worden om een EC_{50} af te leiden.

De bacteriën zijn pH gevoelig. Indien de pH in het water afwijkt van de randvoorwaarden (< 6 of > 8.5) dan moet deze bijgesteld worden met HCl, of NaOH tot $\text{pH } 7.5 \pm 0.1$. Dit wordt gerapporteerd.

Bioluminescentie activiteit van de bacteriën hangt af van zuurstof. Indien dit zuurstofgehalte lager is dan 3 mg/l dan wordt het watermonster gedurende 20 min., net voor aanvang van de test, belucht. Deze aanpassing wordt gerapporteerd.

De metingen van ~~chloriden, sulfaten en~~ ammonium worden gerapporteerd. In geval van afwijkende randvoorwaarde voor ammonium wordt er niet gecorrigeerd, maar wordt overschrijding van randvoorwaarde duidelijk vermeld in het rapport, als mogelijke parameter die bijdraagt tot gemeten toxiciteit, naast deze die te wijten zou zijn aan milieugevaarlijke stoffen.

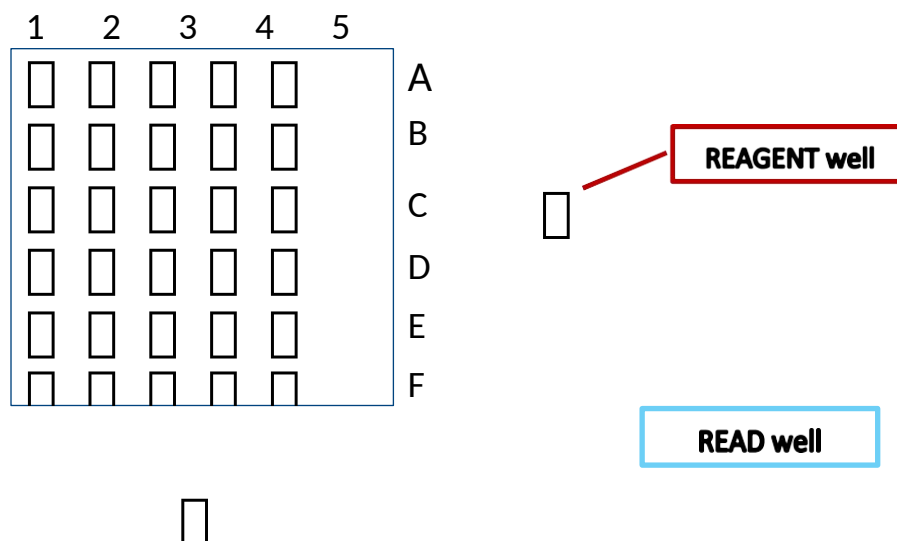
In overleg met de opdrachtgever kan bij afwijking van ammonium alsnog een nieuwe test worden uitgevoerd door aanpassingen te doen aan het water (bijv. beluchten om ammoniak te strippen, of bufferen voor pH om ammonium/ammoniak effect uit te sluiten) gevolgd door meting van ammonium. Dergelijke aanpassingen aan het watermonster moeten gerapporteerd worden als een afwijking op de methode.

Andere factoren, dan hogervermelde randvoorwaarden kunnen interfereren met de meting van acute toxiciteit voor bacterie.

- Gechloreerde stalen, bijv. waterstalen die gecontamineerd werden met chloor zijn per definitie bacterievrij en dus toxisch. Indien er aanwijzing is voor chloortoxiciteit kan in overleg met de opdrachtgever een nieuwe meting worden uitgevoerd na verwijdering van het chloor. Om acute toxiciteit te meten zonder chloor interferentie, kunnen zulke stalen gedechloreerd worden met een natriumthiosulfaatoplossing door het doseren van 0.1 ml van een 1.8% thiosulfaatoplossing per 100ml watermonster. Dit is een afwijking van methode die gerapporteerd moet worden.
- Voor watermonsters met een complexe milieumatrix zoals kleur, aanwezigheid van deeltjes of troebeling kan de meting van bioluminescentie verstoord worden door matrixeffecten. Er wordt voor dat type stalen steeds de correctie methode toegepast (zie 4.5.3). Dit wordt

overeenkomstig gerapporteerd.

4.5 WERKWIJZE



Figuur 1: Test set up, bijvoorbeeld voor het Microtox toestel.

4.5.1 ALGEMEEN

Bij elk gebruik van een nieuwe bacteriesuspensie voor de bacterie test moet een test opgezet worden met de positieve controle, fenol (100 mg/l) om de kwaliteit van de bacteriën te controleren. Deze analyse gebeurt in parallel met deze van een watermonster, volgens eenzelfde protocol.

In afwachting van evaluatie van een specifiek protocol voor een limiettest (met replica's)² worden voorlopig al de watermonsters waarvoor enkel de hoogste concentratie moet getest worden volgens een limiettest opgezet volgens hetzelfde protocol als hetgeen nodig is om een verdunningsreeks te testen. Hiervoor wordt het protocol '81.9% Basic test' gekozen, wat de bepaling van EC_{50} toelaat en eveneens een % effect geeft voor de hoogst geteste concentratie, nl. 81.9% watermonster.

4.5.2 PROTOCOL 81.9% BASIC TEST VOOR LIMIETTEST EN VERDUNNINGSREEKS

Dit protocol laat toe een resultaat te bekomen, als 50% effect voor inhibitie van bioluminescentie van een verdunningsreeks van het watermonster, relatief t.o.v. de spontane daling van de controle (blanco). In belang van kostenefficiëntie wordt enkel afleestijd 30 minuten gekozen. Indien een limiettest moet uitgevoerd worden is het voldoende het % effect bij de hoogst geteste concentratie te rapporteren.

Via dit protocol kunnen er 2 monsters gelijktijdig getest worden.

Test parameters:

- 1 controle (of blanco), met 1 replica,
- 2 monsters (i.v.t.) met elk 1 replica³,
- 4 diluties met dilutie factor 2,

² Een protocol 81.9% screening, met mogelijkheid voor testen van replica's (en geen verdunningen) wordt geëvalueerd

qua bruikbaarheid voor limiettest als alternatief voor de 81.9% basic test, zoals tot hertoe voorzien in WAC-procedure.

³ Bij een 1^{ste} testreeks met de bacteriesuspensie zal één van de watermonsters de referentiestof, fenol zijn.

- Initiële concentratie 81.9%
- Test tijd 30 min⁴
- Zero-time reading

(§) Indien deze test wordt uitgevoerd in opvolging van een voorgaande test, en binnen de 3 u van ontdooien van gelyofiliseerde bacteriën, dan kan dezelfde bacteriesuspensie gebruikt worden, zie stap 13-16, en vallen deze stappen (in blauw) in het hierna beschreven uitvoeringsschema weg.

Uitvoering:

1. Het toestel wordt opgezet, en wanneer de testblok op temperatuur is verschijnt een groen signaal zodat er gestart kan worden.
2. De te testen watermonsters/referentiestof zijn klaar voor gebruik (op kamertemperatuur, randvoorwaarden geverifieerd, en mogelijke interferenties bijv. kleurcorrectie gepland).
3. Test parameters worden ingesteld, indien software met computer wordt gebruikt.
4. Plaats nieuwe cuvetten in de wells A1-A5 en B1-B5 voor monster 1, C1-C5 en D1-D5 voor watermonster 2, een cuvet in de reagent well (§), en een cuvet in F3 (zie Figuur 1).
5. Breng 1000 µl reconstitutie oplossing in de reagent well.
6. Breng 1500 µl diluent in cuvette F3.
7. Breng telkens 1000 µl diluent in cuvetten in A1-A4, en 1000 µl diluent in cuvetten C1-C4.
8. Breng monster 1 in cuvet A5,
 - o Indien geleidbaarheid van het monster < 28000 µS/cm, breng 2.5 ml in cuvet A5, voeg 250 µl OAS toe, meng grondig en verwijder terug 750 µl.
 - o Indien geleidbaarheid van het monster ≥ 28000 µS/cm en ≤ 48000µS/cm, breng 2.0 ml in cuvet A5
 - o Indien geleidbaarheid van het monster > 48000 µS/cm, verdun het monster met diluent in een apart recipiënt tot geleidbaarheid 48000 µS/cm, en breng van verdunde monster 2 ml in cuvet A5.
9. Herhaal stap 8: voor monster 2 in cuvet C5.
10. Maak 1:1 seriële dilutie door 1000 µl uit cuvet A5 te transfereren naar cuvet A4, goed mengen met pipet, en transfereer 1000 µl uit A4 naar A3, goed mengen en transfereer 1000 µl uit A3 naar A2, goed mengen, en tot slot verwijder 1000 µl uit A2. In cuvet A1 blijft uitsluitend 1000 µl als blanco.
11. Herhaal stap 10: voor monster 2 in cuvetten C5-C2. In cuvet C1 blijft uitsluitend 1000 µl als blanco.
12. Wacht 5 minuten.
13. Men neemt een tube met gelyofiliseerde bacteriën uit de diepvries (§).
14. Schudt de tube zodat het pellet van de bacteriesuspensie op de bodem zakt van de tube (vermijdt opwarming van tube door de handen).
15. Neem de cuvet met gekoelde reconstitutie oplossing uit de reagent well, en breng de inhoud bij de tube met de bacteriën. Sluit de tube af, en zwenk de tube een 3-tal keer om de bacteriesuspensie grondig te mengen.
16. Breng het geheel over in de cuvet die in de reagent well koud staat, en suspendeer een 10-tal keer met een pipet van 500 µl om te mengen. Deze bacterie suspensie kan maximaal gedurende 3 uur gebruikt worden.
17. Breng nu 150 µl van de bacteriesuspensie naar cuvet F3 waarin reeds dilutie oplossing was, en meng door herhaaldelijk te suspenderen met de pipet.
18. Breng 100 µl uit de F3 cuvet met verdund reagent naar elk van de cuvetten B1-B5.

⁴ Metingen kunnen ook na 5' en 15 ' uitgevoerd worden, maar niet vereist voor rapportage van resultaat acute toxiciteit. Additionele aflezing in overleg met de klant kan uitgevoerd worden, met voorkeur voor 15'.

19. Herhaal stap 18: voor cuvetten D1-D5.
20. Wacht 15 minuten.
21. Plaats een cuvet in de READ cell, en druk op set.
22. Meet vervolgens in de READ cell nu elk van de cuvetten B1-B5, (en registreer indien niet gekoppeld met computer), dit is de I_0 of achtergrond meting voor bioluminescentie op tijdstip 0.
23. Pipetteer nu onmiddellijk 900 μ l uit elk van de cuvetten A1-A5, en transfereer naar corresponderende wells in onderliggende rij B, dus naar B1-B5, en meng door herhaaldelijk suspenderen met de pipet. Stel de klok in op 30 min.
24. Herhaal stap 22 voor de cuvetten D1-D5, voor meting I_0 (en registreer).
25. Herhaal stap 23, voor de transfer van 900 μ l uit cuvetten C1-C5 naar D1-D5. Stel nu ook de klok in op 30 min.
26. Na 30 minuten worden de cuvetten B1-B5 gemeten voor bioluminescentie $I_{30\text{min}}$. De resultaten worden geregistreerd, of via computer connectie opgeslagen voor berekening.
27. Herhaal stap 26 voor de cuvetten D1-D5.
28. De meetcuvetten uit de thermoblok worden verwijderd als toxisch afval. De bacteriesuspensie in de REAGENT-well kan gebruikt worden voor een volgende test mits binnen de 3 uur na openen van het flesje uit de diepvries.
29. Het resultaat wordt berekend met beschikbare software met % effect voor elke dilutie, en een EC_{50} voor 30 min met 95% confidentie interval en geregistreerd. Voor details over berekeningen wordt verwezen naar de handleiding.
30. De berekening van de EC_{50} voor de fenolstandaard (100 mg/l) moet tussen 13 en 26 mg/l liggen.

4.5.3 CORRECTIE VOOR KLEUR EN/OF TURBIDITEIT

Voor watermonsters (milieumatrices), waar interferenties door kleur, aanwezigheid van deeltjes of troebelings, het gemeten luminescentie signaal kunnen beïnvloeden bij de bacterie test (zie **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**) moet er steeds gecorrigeerd worden.

Hiervoor wordt een spectrofotometrische meting uitgevoerd van het watermonster, bij elke concentratie die getest werd. Indien het watermonster aangepast werd met OAS, dan zal er van dit monster, en de corresponderende verdunningen, een bereiding gemaakt worden voor de spectrofotometrische meting bij 490 nm.

Resultaten van de spectrofotometrische metingen bij elk staal, en verdunning worden geregistreerd voor invoer in rekenprogramma van de Microtox software.

Men roept de resultaten file op, en kiest 'Test', en vervolgens 'Enter colour correction data'. Voor de achterliggende berekeningen wordt verwezen naar de handleiding Microtox.

Een gecorrigeerde % effect waarde voor elke testconcentratie, en indien van toepassing een nieuwe EC_{50} waarde worden berekend en gerapporteerd als gecorrigeerde waarde.

4.5.4 KWALITEITSCONTROLE

4.5.4.1 EERSTELIJNSCONTROLE

Beslissingscriterium voor geldigheid van de test:

- Een referentiestof wordt voor elke aangemaakte bacteriesuspensie getest om te toetsen of de organismen een normale gevoeligheid vertonen. Als referentiestof wordt fenol gebruikt waarvan de EC_{50} waarde tussen 13 en 26 mg/l moet liggen bij de test met een verdunningsreeks voor 30 min. blootstelling.

- De spontane lichtdaling van de blanco, nl. de vermindering van I_0 tot $I_{30\text{min}}$, mag maximaal 60% bedragen. Een te snelle lichtafname duidt op een slechte kwaliteit van de bacteriële batch, en dan mag die niet gebruikt worden voor een test.
- De variatie tussen de metingen voor alle testcondities in eenzelfde test, op tijdstip $t=0$ (controle= achtergrond van alle stalen, I_0) moet $\leq 10\%$. Grotere afwijkingen wijzen op een pipetteerfout waardoor het bacterie-aantal niet gelijk is in iedere cuvet.

Deze waarden van de 3 criteria worden bijgehouden in controle kaarten.

Herkomst en kwaliteit van testorganismen:

- De herkomst van de organismen moet getraceerd kunnen worden (batchnummer, datum).

4.5.4.2 TWEDELIJNSCONTROLE

Een test op een toxisch watermonster⁵ wordt in duplo uitgevoerd volgens protocol “81.9% basic test” aan hierna vermelde frequentie.

- De EC_{50} waarden worden geregistreerd in een statistische controlekaart, met het 95% confidentie interval.
- Duplo waarden voor % effect voor elke testconcentratie mogen onderling niet meer dan 20% verschillen.
- De minimale frequentie voor test op duplo monsters:
 - o Bij wekelijkse uitvoering van de test: driemaandelijks.
 - o Bij maandelijkse uitvoering: zesmaandelijks.
 - o Bovendien zal ieder van de betrokken uitvoerders minstens 1 maal per jaar een test volgens het gangbare protocol om EC_{50} te bepalen en % effect bij hoogste testconcentratie.

4.5.4.3 DERDELIJNSCONTROLE

Minstens 1x per jaar deelnemen aan een externe ringtest, indien die georganiseerd wordt (bijv. Aquacheck).

4.5.4.4 OPVOLGING VAN AFWIJKINGEN

Indien de EC_{50} resultaten, of de % effect waarden van de duplo monsters niet voldoen aan de statistische grenzen, of als één of meer van de geldigheidscriteria bij testuitvoering niet voldoen, dan dient een analyse van de oorzaak en reikwijdte uitgevoerd te worden. Indien hieruit blijkt dat bepaalde resultaten onbetrouwbaar zijn mogen deze niet gerapporteerd worden en dient een nieuwe bemonstering te worden uitgevoerd van de geteste waters. Indien van toepassing dient ook de impact op eerder gerapporteerde resultaten te worden nagegaan.

4.5.5 RAPPORTERING

Het testrapport bevat:

- De identificatie van het watermonster, gegevens over monstername, datum van testuitvoering met monster, resultaten van meting van de randvoorwaarden en aanpassingen, indien van toepassing.
- Verwijzing naar de betreffende WAC-methode voor ecotoxiciteit, en WAC-methode voor bepaling van fysicochemische parameters.

⁵ Bij gebrek aan toxische milieumonsters kan een monster aangemaakt worden met toevoeging van een referentiestof (positieve controle voor de bacterietest), bijv. zinksulfaat aan 50 mg/l

- Gegevens over het testorganisme (naam, herkomst, batch), en protocol van testuitvoering (bijv. met kleurcorrectie)
- Resultaten:
 - o Fysicochemische parameters van testoplossing, en eventuele aanpassingen (bijv. toevoeging OAS).
 - o % effect voor bioluminescentie na 30 min. bij de hoogst geteste concentratie watermonster indien beoordeling volgens limiettest.
 - o EC₅₀ voor bioluminescentie na 30 min en % effect in de hoogst geteste concentratie van het watermonster indien beoordeling op basis van verdunningsreeks
- Opmerkingen en afwijkingen.

5 REFERENTIES

- ISO 11348 (2007). Water quality — Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) —Part 3: Method using freeze-dried bacteria.
- Microtox Manual. A Toxicity Testing Handbook. Microbics Corporation. Versie 1992. 5 delen.
- MicrotoxOmni™ Software for Windows®, AZUR.
- Postma J.F., De Valk S., Dubbeldam M., Maas J.L., Tonkes M., Schipper C.A. & B. J. Kater (2002). Confounding factors in bioassays with freshwater and marine organisms. *Ecotoxicology and environmental safety* 53, 226-237.

Ecotoxiciteitstest met vissen: acute toxiciteit voor forel (*Oncorhynchus mykiss*)

INHOUD

1	Toepassingsgebied	3
2	Keuze van testorganisme	3
3	Principe van de vistest	4
3.1	<i>Eindpunt voor acute toxiciteit bij vissen.</i>	4
3.2	<i>Limiettest</i>	4
3.3	<i>Verdunningsreeks</i>	4
4	Definities	5
5	Acute toxiciteit voor de juveniele regenboogforel, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	5
5.1	<i>Inleiding</i>	5
5.2	<i>Apparatuur en materiaal</i>	6
5.3	<i>Reagentia en oplossingen</i>	6
5.4	<i>Watermonster</i>	6
5.5	<i>Werkwijze</i>	7
5.5.1	Controle medium of verdunningswater	7
5.5.2	Testorganismen	8
5.5.3	Testoplossingen van watermonsters	9
5.5.4	Blootstelling	10
5.5.5	Dagelijkse evaluatie tijdens de test	10
5.5.6	Berekening van resultaat voor acute toxiciteit na 96 u	11
5.5.7	Kwaliteitscontrole	11
5.5.8	Rapportering	12
6	REFERENTIES	13
	BIJLAGE A : Bereiding van controle- en verdunningsmedium	14
	BIJLAGE B : Kwaliteitscontrole leidingwater (OECD 203, 2019)	15

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft de werkwijze om de acute toxiciteit voor vissen met juveniele forel als testorganisme te bepalen. ~~en ze maakt deel uit van het erkenningspakket “W.9.2.2, acute toxiciteit voor vissen”.~~ Vissen vertegenwoordigen een belangrijk trofisch niveau, als primaire of secundaire consumenten in het aquatisch ecosysteem.

De procedure is van toepassing voor

- Diverse waterige milieumatrices: afval-, oppervlakte-, drink- en grondwater.
- Waterige oplossingen met chemische stoffen, mits deze in oplossing zijn als stabiele suspensie of via dispersie.

De test ‘acute toxiciteit voor vissen’ wordt standaard uitgevoerd met het zebravisembryo, *Danio rerio* volgens procedure WAC/V/B/002. ~~die onder hetzelfde erkenningspakket W.9.2.2 valt.~~ In bepaalde gevallen, zoals hierna beschreven, wordt er voor de juveniele forel als testorganisme gekozen.

Om tegemoet te komen aan de Europese wetgeving op proefdierexperimenten (Richtlijn 2010/63/EU en Uitvoeringsbesluit 2012/707/EU), de Dierenwelzijnswet en het KB van 29 mei 2013 moet steeds waar mogelijk een alternatieve test worden uitgevoerd, om het gebruik van vissen als proefdier te beperken. Er is voor vissen de alternatieve test met zebravisembryo 's, waarbij het embryo gebruikt vóór de 5^{de} dag na bevruchting of voor de leeftijd van 120 u, niet als proefdier wordt beschouwd (Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU).

Enkel in uitzonderlijke gevallen, zoals hierna vermeld voor waters met hoge geleidbaarheid vanwege zouten, met mogelijk schadelijke effecten voor een zoetwaterorganisme (bv. toxiciteit door osmotische stress) wordt de test met zebravisembryo niet gebruikt. De acute toxiciteit door milieugevaarlijke stoffen kan beïnvloed of gemaskeerd worden door effecten van het zout. Om die reden worden er voor een testorganisme zogenaamde ‘randvoorwaarden’ voor de fysicochemische parameter geleidbaarheid **gedefinieerd**. **Geleidbaarheid is een goede maat voor de totale activiteit van zoutionen**, waarvan chloriden en sulfaten de belangrijkste zijn. ~~gedefinieerd~~. Indien de fysicochemische parameter geleidbaarheid voor het zebravisembryo overschreden is, zowel bij het onverdunde watermonster (100%), alsook bij het 1:1 verdunde watermonster (50%), dan zal men voor de vistest de juveniele regenboogforel, *Oncorhynchus mykiss* als testorganisme kiezen. Deze species heeft een bredere tolerantiegrens voor zouten.

De test voor acute toxiciteit met forel kan enkel aangewend worden mits het labo een erkenning heeft voor het gebruik van proefdieren en een goedkeuring voor proefdierexperimenten bekomen werd bij een ethische commissie. Actuele reglementering omtrent gebruik van proefdieren kan geraadpleegd worden op de website van de cel dierenwelzijn, Vlaams departement omgeving (<https://dierenwelzijn.vlaanderen.be/wetgeving-dierenwelzijn>)

2 KEUZE VAN TESTORGANISME

Voor de juiste keuze van het testorganisme voor een vistest is meting van geleidbaarheid¹ in het water vereist.

¹~~Bijkomende criteria als concentratie van chloriden en sulfaten maken deel uit van lopend onderzoek en worden momenteel nog niet gehanteerd bij keuze testorganisme.~~

Meting van geleidbaarheid in het watermonster wordt in de 1^{ste} plaats getoetst aan de randvoorwaarden voor zebravisembryo, zoals dit beschreven wordt in de WAC-procedure "WAC/V/B/002: Ecotoxiciteitstest met vissen: acute toxiciteit voor zebravisembryo (Danio rerio)". Enkel en alleen bij een overschrijding van de randvoorwaarde geleidbaarheid voor zebravisembryo bij zowel 100% als 50% water zal gekozen worden voor de juveniele forel als testorganisme, en wordt de procedure gevolgd zoals hierna beschreven. De criteria zijn te vinden in **Tabel 1**.

Tabel 1: Criteria voor geleidbaarheid in 100% watermonster bij keuze voor foreltest

Parameter	Geleidbaarheid (µS/cm)
Regenboogforel, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	≥ 1400 0

De meetresultaten van de geleidbaarheid, bij de gemeten concentratie van het water worden gedateerd en gerapporteerd, ter motivatie voor de keuze van het testorganisme.

3 PRINCIPE VAN DE VISTEST

3.1 EINDPUNT VOOR ACUTE TOXICITEIT BIJ VISSEN.

De acute toxiciteitstest op juveniele regenboogforel berust op het meten van de sterfte van vissen, als maat voor acute toxiciteit na blootstelling gedurende (96 ± 2) u aan het watermonster in vergelijking met het controle medium tijdens een statische blootstelling (geen verversing van het medium). De sterfte wordt dagelijks gecontroleerd, en het cumulatief aantal dode vissen op 96 u wordt berekend als % effect in de testgroep t.o.v. het aantal levende vissen bij aanvang van de test. Naast sterfte worden eveneens andere zichtbare afwijkingen als uitzicht en gedrag geregistreerd.

In de test met zebravisembryo worden 4 eindpunten gemeten (coagulatie ei/sterfte larve; ontbreken van normale ontwikkeling somieten, ontbreken hartslag & ontbreken staartloslating), als maat voor acute toxiciteit na blootstelling gedurende (96 ± 2) u of 4 dagen aan het watermonster in vergelijking met het controle medium. Het is voldoende om enkel op 96 u blootstelling de evaluatie van 4 eindpunten te doen. Het % effect wordt berekend door het aantal organismen in de testgroep te tellen waarvoor minstens één (of meer) van de eindpunten gescoord werd ten opzichte van het aantal gezonde organismen bij start van de test (zie WAC/V/B/002).

3.2 LIMIETTEST

Voor het meten van de toxiciteit van waters wordt standaard een limiettest uitgevoerd op onverdund water (100%). Het % effect na (96 ± 2) u blootstelling aan de hoogst geteste concentratie van het water (100%) wordt gerapporteerd, en dit telkens in vergelijking met het % effect bij blootstelling aan controle medium.

3.3 VERDUNNINGSREEKS

Uitzonderlijk worden de testen uitgevoerd op een verdunningsreeks van het water. Dit kan van toepassing zijn wanneer dit vereist is in het kader van de bijzondere voorwaarde in een vergunning of bij verder onderzoek naar oorzaken van acute toxiciteit (TIE-Toxiciteit identificatie & evaluatie). De

klassieke werkwijze op een water meteen in een reeks van minstens 5 concentraties te testen wordt niet toegepast voor de test met forel vanuit ethisch oogpunt. Een getrapte werkwijze te beginnen met één testconditie bij de hoogste testconcentratie van het watermonster wordt gestart. Indien er afwijkingen zijn (symptomen als evenwichtsverlies, hyperventilatie, geen reactie op externe stimuli) dan kan dit wijzen op toxiciteit, en wordt een volgende concentratie watermonster (1:1) gestart, enz. Dit aangepaste protocol om een test voor bepaling van een LC₅₀ uit te voeren wordt voorgesteld aan de betrokken ethische commissie, die dit moet goedkeuren. Om het lijden van proefdieren te beperken zullen in overleg met de ethische commissie humane eindpunten gedefinieerd worden, als vroege indicatie voor mortaliteit, waarbij vissen bij tussentijdse evaluatie uit de opstelling mogen verwijderd worden om euthanasie toe te passen (OECD203).

4 DEFINITIES

Volgende definities zijn van toepassing:

- Humane eindpunten: om lijden van proefdieren te beperken worden klinische symptomen gedefinieerd die een vroege aanwijzing zijn van letaliteit bij stervende organismen.
- Letaliteit: een vis of larve wordt als dood beschouwd indien geen actief zwemgedrag, of aanraking van de staartwortel geen reactie teweegbrengt en er geen ademhalingsbewegingen zichtbaar zijn.
- LC₅₀ (50 % letale concentratie): dit is de concentratie waarbij 50% van de vissen in een testgroep sterft binnen de vooraf bepaalde blootstellingsperiode.
- Limiettest: in de test wordt 1 concentratie van het water (nl. de hoogste concentratie 100% of bij overschrijding van randvoorwaarden een verdunning van 50% of 25%) geëvalueerd in vergelijking met controle medium.
- Randvoorwaarden: voor het testmonster geldende grenzen voor fysicochemische parameters, zoals pH, O₂, geleidbaarheid, waarbij er geen effect op (acute) toxiciteit wordt verwacht ten opzichte van de controle conditie.
- Referentiestof: een referentiestof wordt getest om aan te tonen dat de gevoeligheid van de geteste soort onder laboratoriumomstandigheden niet in belangrijke mate veranderd is en/of de uitvoering van de test voldoet aan vooropgestelde criteria qua te verwachten toxische effecten voor de referentiestof (ook positieve controle). Acute testen met een referentiestof worden niet uitgevoerd met juveniele forel omwille van ethische redenen.
- Toxiciteit identificatie en evaluatie (TIE): onderzoek naar de oorzaken van toxiciteit door waters te onderwerpen aan diverse behandelingen (filtratie, actieve kool, organische extractie) met het doel de toxiciteit toe te wijzen aan bepaalde fracties uit deze behandelingsstappen.

5 ACUTE TOXICITEIT VOOR DE JUVENIELE REGENBOOGFOREL, ONCORHYNCHUS MYKISS

5.1 INLEIDING

De uitvoering van de acute toxiciteit met juveniele regenboogforel voor waters in deze WAC-procedure is gebaseerd op 2 internationale richtlijnen, nl. ISO 7346-1 (1996) en OECD 203 (2019).

Deze test wordt uitgevoerd met juveniele vissen, die als proefdier beschouwd worden en waarvoor een aanvraag moet gebeuren bij de ethische commissie, nadat het laboratorium ook een erkenning kreeg voor het gebruik van proefdieren. Specifieke informatie omtrent de vereisten bij het werken met forellen voor toxiciteitstesten is te bekomen bij het Vlaamse departement omgeving, cel dierenwelzijn (<https://dierenwelzijn.vlaanderen.be/wetgeving-dierenwelzijn>).

Voor uitvoering van experimenten met juveniele regenboogforel dient men de vissen aan te kopen bij een leverancier, en de proefdieren in het labo te huisvesten rekening houdend met wetgeving dierenwelzijn. Meer toelichting in de sectie over testorganismen (zie 5.5.2).

5.2 APPARATUUR EN MATERIAAL

- Zuurstofmeter voor bepaling conform WAC/III/A/008
- Thermometer
- pH-meter voor pH meting conform WAC/III/A/005
- Geleidbaarheidsmeter voor meting geleidbaarheid conform WAC/III/A/004
- ~~Materiaal en apparatuur voor de bepaling van chloriden en sulfaten, conform WAC-procedure WAC/III/C.~~
- Materiaal en apparatuur voor de bepaling van ammonium
- Analytische balans, aflezing tot 0.1 mg
- Klimaatkamer of koelsysteem voor aquaria, met dag/nacht cyclus
- Beluchting systeem (olie-vrij), met vertakkingen naar aquaria
- Pipetten en toebehoren
- Standaard labo glasmateriaal: maatkolven, maatcilinders voor bereiding van testoplossingen en verdunningen
- Glazen aquaria, met een inhoud die voldoet aan de maximale belading tijdens de test van (1 ± 0.1) g vis/liter testoplossing (zie 5.5.4) met afdekplaat.

5.3 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- Leidingwater, mits voldoende kwaliteit om vissen tijdens acclimatisatie en gedurende langere tijd huisvesting in gezonde conditie en zonder stress te houden (voor waterkwaliteit zie 5.5.1)
- Gedemineraliseerd water ($< 10 \mu\text{S/cm}$).
- Verdovingsmiddel voor euthanasie van de vissen (product en gebruik volgens aanvraag ethische commissie)

5.4 WATERMONSTER

Voor de monsternamen en houdbaarheid wordt verwezen naar respectievelijk WAC/I/A/003, WAC/I/A/004 en WAC/I/A/010.

Bij gebruik voor fysicochemische metingen om de randvoorwaarden te controleren wordt een gehomogeniseerd en representatief deelstaal genomen, en op kamertemperatuur gezet.

Naast de meting van geleidbaarheid bij keuze van testorganisme (zie **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**) worden eveneens pH, zuurstof, ~~chloriden, sulfaten~~ en ammonium gemeten en gerapporteerd als randvoorwaarden. Voor deze parameters zijn er aanvaardbare ranges gedefinieerd waarbij er geen effect in de vorm van acute toxiciteit voor de forel zou optreden (**Tabel 2**).

Tabel 2: Randvoorwaarde voor fysicochemische parameters voor juveniele regenboogforel.

Parameter	pH	Zuurstof (mg/l)	Geleidbaarheid (µS/cm)	~~Chloride~~ ~~n~~ ~~(mg/l)~~	~~Sulfate~~ ~~n~~ ~~(mg/l)~~	Ammonium (mg/l NH ₄ ⁺ , pH 8) ²
Regenboogforel, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	6.0 – 9.0	≥ 5	< 22000	~~< 5000~~	~~g.d.~~	< 18.0

g.d.: geen data

Indien de pH van het watermonster buiten de toegelaten range valt (< 6.0 of > 9), dan wordt meteen de pH aangepast met zuur of base tot een pH- overeenkomstig die van het controle medium ± 0.1. Enkel en alleen indien het zuurstofgehalte lager is dan 5.0 mg/l, dan wordt het watermonster gedurende 20 min., net voor aanvang van de test, belucht³. De aanpassingen voor pH en zuurstof worden gerapporteerd.

Indien de geleidbaarheid in het watermonsters de bovengrens overschrijdt, dan zal in een limiettest het watermonster verdund worden tot 50% als hoogste concentratie, of tot 25% om te voldoen aan de toegelaten range voor geleidbaarheid. Bij het testen van een verdunningsreeks zal het watermonster zodanig verdund worden dat de hoogste concentratie van de reeks overeenkomt met een geleidbaarheid van 22000 µS/cm, en van daaruit 1:1 verder verdund worden om te testen in een getrapte procedure voor bepaling van een LC₅₀.

De metingen van ~~chloriden, sulfaten en~~ ammonium worden gerapporteerd. In geval van afwijkende randvoorwaarden voor ammonium ~~en chloriden~~ wordt er niet gecorrigeerd, en wordt overschrijding van randvoorwaarde duidelijk vermeld in het rapport, als mogelijke parameter die bijdraagt tot gemeten toxiciteit, naast deze die te wijten zou zijn aan milieugevaarlijke stoffen.

In overleg met de opdrachtgever kan bij afwijking van ammonium alsnog een nieuwe test worden door aanpassingen te doen aan het water (bijv. Beluchten om ammonium te strippen, of bufferen voor pH om ammonium effect uit te sluiten) gevolgd door meting van ammonium. Dergelijke aanpassingen aan het watermonster moeten gerapporteerd worden als een afwijking op de methode.

5.5 WERKWIJZE

5.5.1 CONTROLE MEDIUM OF VERDUNNINGSWATER

Voor de vistest met juveniele forel is het toegelaten om leidingwater (drinkwater) te gebruiken als controle medium en verdunningswater, mits van voldoende kwaliteit. Dit betekent dat de vissen die tijdens quarantaine, acclimatisatie en gedurende langere tijd huisvesting in het labo op dit leidingwater, in een gezonde conditie blijven, en geen stress ondervinden. Verder zal via analyse de kwaliteit van het leidingwater worden aangetoond, en interferentie met resultaten voor toxiciteit bij gebruik als verdunningswater worden uitgesloten. Daarom moet er minstens 1x/jaar een meting worden uitgevoerd van de kwaliteitsparameters, zoals opgelijst in annex 3 van de OECD 203 richtlijn (zie parameter lijst in BIJLAGE B).

² Randvoorwaarde ammonium bij pH > 8 kan lager zijn vanwege hogere toxiciteit, maar data ontbreken.

³ Bovendien wordt het zuurstofgehalte op peil gehouden tijdens de blootstelling door continue beluchting.

Indien het beschikbare leidingwater niet van voldoende kwaliteit is zal men de nodige maatregelen nemen (bijv. dechlorering), of men moet gebruik maken van gereconstitueerd medium, vertrekkende van 4 zouten om controle medium of verdunningswater, te bereiden conform de samenstelling zoals voorgeschreven in ISO 7346-1 richtlijn. Een werkwijze voor de bereiding van stockoplossingen (40x), en verdunning tot controle medium of verdunningswater (ook viswater genoemd) wordt gegeven in BIJLAGE A.

5.5.2 TESTORGANISMEN

5.5.2.1 HERKOMST FORELLEN

Voor de beoordeling van waters met een hogere geleidbaarheid en zoutgehalte (zie **Tabel 1**) wordt in Vlaanderen de vissoort *Oncorhynchus mykiss* gebruikt. Het labo heeft een erkenning als proefdierlabo en een aanvraag bij de ethische commissie werd goedgekeurd voor uitvoering van acute toxiciteit met forel, zodat men in regel is met de wetgeving dierenwelzijn (KB, 29 mei 2013; <https://dierenwelzijn.vlaanderen.be/proefdieren>).

Men wendt zich tot een externe leverancier voor de aankoop van juveniele forellen, waarbij criteria voor aanbevolen grootte van de vissen in acht wordt genomen (Tabel 3).

Elke partij vissen moet organismen van eenzelfde soort en vergelijkbare leeftijd (~ lengteklasse) bevatten, en wordt in het labo geregistreerd met een partijnummer waarnaar gerefereerd kan worden bij gebruik in de testen. De kwaliteit van de geleverde vissen moet door de leverancier gedocumenteerd worden.

5.5.2.2 GOEDKEURING VAN PARTIJ FORELLEN VOOR EEN TEST

Alle vissen die gebruikt worden voor een test moeten vooraf minstens 9 dagen in het laboratorium aanwezig zijn en voldoen aan gezondheidscriteria zoals hierna beschreven (OECD203, 2019).

Elke partij in het labo wordt geregistreerd, met type water in de aquaria, beluchting, gebruik van filters voor zuivering of verversingsregime, dagelijkse opvolging van de gezondheid van de vissen (sterfte en andere visuele observaties), registratie van voeding, van eventuele behandeling voor ziekte, en regelmatige registratie van waterkwaliteitsparameters, als pH, zuurstof, temperatuur, hardheid, N- verbindingen als nitriet, ammonium... (zie ook KB, 29 mei 2013).

Wanneer het de aankoop van een nieuwe partij vissen betreft, dan moet deze partij eerst een quarantaineperiode passeren, die bestaat uit 48 uur gewenningsperiode, gevolgd door 7 dagen acclimatisatie (=totaal 9 dagen). De vissen worden in die periode op hetzelfde water gehouden, als hetgeen gebruikt wordt als controle medium en verdunningswater voor de testen. Ook de omgevingscondities (dag/nacht ritme, en temperatuur) zijn in dezelfde range als deze voor de test (zie 5.5.4). De bedoeling van deze 9-dagen periode is om de gezondheidstoestand van de vissen te volgen en enkel wanneer aan onderstaande voorwaarden wordt voldaan mogen de vissen gebruikt worden voor de geplande testen.

Bij aankomst in het labo worden de vissen 30 minuten geacclimatiseerd door de plastic transportzakken gesloten en ondergedompeld te houden in het quarantaineaquarium, vooraleer de toegekomen vissen vrij te laten in het aquarium water. Na een gewenningsperiode van 48 uur volgt een acclimatisatieperiode van 7 dagen. De sterfte, alsook andere visuele observaties als gedrag, misvormingen, tekenen van infectie bij de partij vissen wordt dagelijks genoteerd gedurende deze periode. Voor de 7 dagen acclimatisatieperiode wordt de conditie van de partij vissen getoetst:

- Sterfte > dan 10%: partij wordt afgekeurd;
- Sterfte < 5%: partij wordt vrijgegeven voor gebruik in de testen;

- Sterfte tussen 5 en 10%: een 2^{de} periode van 7 dagen acclimatisatie wordt gestart. Wanneer tijdens deze 2^{de} periode > 5% sterfte, dan wordt de partij alsnog afgekeurd. Enkel bij < 5 % sterfte na de 2^{de} acclimatisatieperiode kan de partij goedgekeurd worden voor toxiciteit testen.

Nadat een aquarium met vissen goedgekeurd is, komen deze organismen in stock (per partij). Vissen van verschillende partijen mogen nooit gedurende de periode van acclimatisatie en stockage samengebracht worden. Voor gebruik in één test zullen de organismen steeds afkomstig zijn van dezelfde partij, hetzij direct na quarantaine, hetzij vanuit de stock.

Vissen in stock kunnen gebruikt worden voor een test, op voorwaarde dat er geen sterfte is en de vissen gedurende de laatste 14 dagen vóór gebruik in de testen geen tekenen vertonen van stress, ziekte, kwetsuren of misvormingen. Indien bij vissen in stock een behandeling tegen ziekte of parasieten toegepast werd, dan zal dit ook geregistreerd worden in het logboek van dagelijkse opvolging. Men zal vanaf het einde van dergelijke behandeling terug 14 dagen moeten wachten en de gezondheidstoestand verifiëren deze periode vooraleer de vissen geschikt zijn om te gebruiken voor een test.

Tabel 3: Aanbevelingen voor testorganisme juveniele regenboogforel.

Testorganisme	Lengte klasse (cm)	Temperatuur range (°C)	Lichtperiode (uur)	Voedseltype
Regenboogforel, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	5.0 ± 2.0	13-17	12-16	Forel korrel

5.5.2.3 VOORBEREIDING VAN FORELLEN VOOR EEN TEST

- Verblijf gedurende 7 dagen voor aanvang van de test in de omgevingscondities (temperatuur, dag/nacht ritme) en watertype zoals gebruikt wordt als controle en verdunningsmedium in de toxiciteitstest, met dagelijkse opvolging.
- Dagelijks voederen, tot 48 u voor aanvang van de test.
- Voor een representatief deel van de partij vissen die gebruikt zullen worden voor een test (bijv. 10 vissen) wordt het gemiddeld gewicht bepaald, in de periode 3-7 dagen voor aanvang van de test door de vissen in een klein volume water te wegen (hetgeen vooraf gewogen werd), op basis waarvan men een gemiddeld gewicht per vis kan bepalen. Dit resultaat wordt gedateerd en geregistreerd, en is nodig om het vereiste testvolume te bepalen (zie 5.5.4.1).

5.5.3 TESTOPLOSSINGEN VAN WATERMONSTERS

Het water wordt op temperatuur overeenkomstig de testrange (13-17°C) gebracht, en goed gehomogeniseerd voor gebruik. De testoplossingen met watermonsters worden vers bereid tot maximum 4 uur voor aanvang van de test.

Voor elk van de testoplossingen wordt een volume voorzien dat voldoet aan de vereiste qua belading vissen, max. (1 ± 0.1) gram vis/liter testoplossing, en het aantal vissen per testconditie (zie **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**).

5.5.3.1 LIMIETTEST VOOR % EFFECT

Het water wordt standaard in een limiettest geëvalueerd als onverdund water (hoogste testconcentratie of 100% water), en dit in vergelijking met een controle conditie (leidingwater of 100% verdunningswater). Indien de randvoorwaarde voor geleidbaarheid voor forel is overschreden kan de hoogste concentratie van het watermonster in de limiettest 50%, uitzonderlijk 25% zijn.

5.5.3.2 TEST MET EEN VERDUNNINGSREEKS VOOR LC₅₀ BEPALING

Indien van toepassing (bijv. volgens bijzondere voorwaarde in vergunning van het bedrijf) moet het watermonster in een verdunningsreeks getest worden om een LC₅₀ waarde te bepalen. Hiervoor wordt het water verdund met verdunningswater (zie 5.5.1) of leidingwater. Een trapsgewijze aanpak is hier vereist om het gebruik van proefdieren, en het onnodig lijden van dieren te beperken. In samenspraak met de ethische commissie wordt een proefopzet uitgewerkt die toelaat om, indien van toepassing, een LC50 te bepalen.

5.5.4 BLOOTSTELLING

5.5.4.1 BLOOTSTELLINGSCONDITIONES

- Duur: (96 ± 2) u
- Licht-donker cyclus: 16 u licht/8 u donker.
- Temperatuur van testoplossingen: (15 ± 2)°C tijdens blootstelling, een temperatuur-gecontroleerde kamer of koelsysteem te gebruiken voor de testuitvoering. Gedurende de verschillende dagen van de test, en tussen testaquaria onderling mag de temperatuur niet meer dan 2°C verschillen, binnen de range van 13 tot 17°C.
- Belading vissen: maximum (1 ± 0.1) gram vis/liter testoplossing.
- Testorganismen: 9 per testconditie in een limiettest, 7 per testconditie in een verdunningsreeks.
- Volume testoplossing: minimum volume wordt bepaald aan de hand van criterium max. 1 gram vis/liter testoplossing, met gegevens van het gemiddeld gewicht van een vis uit de partij (zie 5.5.2.3) en het aantal/testconditie.
- Testrecipiënt: glazen aquaria met deksel, met inhoud die voldoende is voor het vereiste volume/testoplossing voor 7 vissen in een verdunningsreeks of 9 vissen in een limiettest.
- Beluchting: er wordt luchtdoorborreling voorzien in de aquaria, zodat 60% saturatie verzekerd is.
- Statische blootstelling (geen waterverversing).
- Geen voeding.
- Replica's: geen.
- Minstens dagelijks tot 2x daags evaluatie van de vissen, zowel bij de limiettest als test met verdunningsreeks.

5.5.4.2 TRANSFER FORELLEN NAAR TESTOPLOSSING IN AQUARIA

- De aquaria worden gevuld met het vereiste volume van de testoplossing (hoogste concentratie watermonster voor limiettest, of verdunningsreeks van het watermonster) en een aquarium voor controle conditie (idem als verdunningswater: leidingwater of gereconstitueerd viswater).
- De aquaria worden voorzien van beluchting.
- De forellen, geschikt bevonden en geacclimatiseerd voor de test worden per 7 stuks of 9 stuks in elk van de aquaria geplaatst.
- De fysicochemische metingen voor pH, zuurstof en temperatuur worden in de aquaria uitgevoerd waarna ze afgedekt worden.

5.5.5 DAGELIJKSE EVALUATIE TIJDENS DE TEST

- Binnen 2 à 3 uur na opstart van de test moet een 1^{ste} observatie van de testorganismen gedaan worden. Sterfte wordt geregistreerd, maar eveneens andere zichtbare afwijkingen moeten genoteerd worden en kunnen als humane eindpunten gescoord worden op basis een vis als stervende wordt beoordeeld, die men mag verwijderen voor euthanasie. Humane eindpunten

betreft ondermeer verlies van evenwicht (bv. Zinken naar bodem), gewijzigd ademhalingsgedrag (bv. Hyperventilatie), reactievermogen (bv. niet reageren op stimulus) of zwemgedrag (bv. Niet actief zwemmen). De dode vissen worden onmiddellijk bij observatie uit het aquarium verwijderd en afgevoerd als chemisch, biologisch afval.

- Minstens elke 24 u na start van de test tot en met (96 ± 2) u zullen terug observaties van testorganismen plaatsvinden, en effecten zoals hiervoor vermeld voor dag 0, na 2 à 3 u geregistreerd worden, terwijl de dode vissen verwijderd worden. Vanuit belang voor dierenwelzijn wordt aanbevolen om een tussentijdse evaluatie (dus tot 2x/dag) te doen om dode dieren te verwijderen. Dit wordt overeenkomstig per dag geregistreerd. Er worden eveneens dagelijkse metingen van pH, zuurstof en temperatuur in alle aquaria uitgevoerd en geregistreerd op laboformulier.
- Bij het einde van de test, op (96 ± 2) u na registratie van al de observaties van forellen, en fysicochemische metingen wordt de test beëindigd. De nog-levende vissen in de testoplossingen van water worden dood via euthanasie met een hoge dosis verdovingsmiddel. De levende vissen in de controle conditie moeten niet dood gemaakt worden, en zouden in aanmerking kunnen komen voor hergebruik⁴ onder strikte condities (in goede conditie, en minstens 7 dagen in stock vooraleer te gebruiken bij een nieuwe toxiciteitstest).

5.5.6 BEREKENING VAN RESULTAAT VOOR ACUTE TOXICITEIT NA 96 U

5.5.6.1 LIMIETTEST VOOR % EFFECT NA 96 U BLOOTSTELLING

De meting van acute toxiciteit voor de forel test baseert zich op het resultaat van cumulatieve sterfte na (96 ± 2) u blootstelling, ten opzichte van het aantal forellen bij start van de test ($n=9$). Het resultaat wordt omgerekend in % van organismen met een acuut effect voor de hoogst geteste concentratie van het water en voor de controle conditie.

5.5.6.2 TEST MET EEN VERDUNNINGSREEKS VOOR LC_{50} BEPALING NA 96 U BLOOTSTELLING

- Voor elke concentratie water en voor de controlegroep wordt het cumulatief aantal dode vissen geteld na (96 ± 2) u, en uitgedrukt als % effect na 96 u blootstelling ten opzichte van het aantal levende vissen ($n=7$) bij start van de test. De berekening is naar analogie met de limiettest.
- De resultaten van % effect (Y-as) worden grafisch voorgesteld als functie van de concentratie (% verdunning) van het water (X-as) in vergelijking met het % effect van de controle. Een LC_{50} waarde kan afgeleid worden indien een goede concentratie-effect relatie, en er een conditie is met ~0% effect en een conditie met ~100% effect.
- Een LC_{50} waarde voor 96 u blootstelling kan afgeleid of berekend worden op verschillende manieren (grafische interpolatie of statistische methoden, als probit analyse). Indien twee opeenvolgende concentraties met een onderlinge concentratieverhouding van 2 respectievelijk 0 en 100% effect veroorzaken, is het voldoende de LC_{50} te situeren tussen deze beide concentraties.

5.5.7 KWALITEITSCONTROLE

5.5.7.1 EERSTELIJNSCONTROLE

Beslissingscriterium voor geldigheid van de test:

- Overleving in controle condities moet steeds 8 van totaal 9 vissen zijn bij een limiettest, en 6 van totaal 7 vissen zijn bij een verdunningsreeks na (96 ± 2) u blootstelling.
- Het zuurstofgehalte in alle testoplossingen moet ≥ 5 mg/l zijn.

⁴ Hergebruik te definiëren bij de aanvraag proefdierexperimenten bij de ethische commissie

De gegevens van overleving in de controle conditie worden van alle testen bijgehouden in een limietkaart.

Herkomst en kwaliteit van testorganismen:

- De herkomst en gezondheid van de goedgekeurde partij vissen, gebruikt als testorganisme kan aangetoond worden via registraties van levering, dagelijkse opvolging tijdens acclimatisatie en huisvesting in het labo.
- Het criterium wat betreft belading vissen tijdens de test, max. 1 ± 0.1 g/l werd gerespecteerd, en kan aangetoond worden via laboregistraties van bepaling van gemiddelde gewicht vis van de gebruikte partij vissen, en het testvolume water per conditie.

5.5.7.2 TWEEDELIJNSCONTROLE

Er worden geen testen met referentiestof uitgevoerd om proefdierexperimenten in belang van dierenwelzijn te beperken.

5.5.7.3 OPVOLGING VAN AFWIJKINGEN

Indien de resultaten van de testen met betrekking tot geldigheidscriteria, of bij afwijkende concentratie-effect curves bij een verdunningsreeks van een water, niet voldoen dan dient een analyse van de oorzaak en reikwijdte uitgevoerd te worden. Indien hieruit blijkt dat bepaalde resultaten onbetrouwbaar zijn mogen deze niet gerapporteerd worden en dient een nieuwe bemonstering te worden uitgevoerd van de geteste waters. Indien van toepassing dient ook de impact op eerder gerapporteerde resultaten te worden nagegaan.

5.5.8 RAPPORTERING

Het testrapport bevat:

- De identificatie van het monster, gegevens over monstername, datum van testuitvoering met monster, resultaten van meting van de randvoorwaarden en aanpassingen, indien van toepassing.
- Verwijzing naar de betreffende WAC-methode voor ecotoxiciteit, en WAC-methode voor bepaling van fysicochemische parameters.
- Gegevens over het testorganisme (naam, herkomst, partij), motivatie voor keuze van testorganisme a.d.h.v. gemeten randvoorwaarde en type test met hoogste testconcentratie (limiet, of verdunningsreeks).
- Resultaten:
 - Fysicochemische parameters van testoplossingen en controle op T=0 en T=96u
 - % effect na (96 ± 2) u in controle en watermonster, met de geteste concentratie (limiettest) of
 - LC_{50} voor acute effecten na (96 ± 2) u bij verdunningsreeks van water, met % effect in de hoogst geteste concentratie van het watermonster en grafiek voor concentratie-effect op 96 u.
- Opmerkingen en afwijkingen.

6 REFERENTIES

- ISO 7346-1 (1996). Water quality — Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] — Part 1: Static method.
- Koninklijk besluit bescherming van proefdieren, KB 29 mei 2013. Zie ook: <https://dierenwelzijn.vlaanderen.be/sites/default/files/atoms/files/KB%2029.05.13%20Bescherming%20van%20proefdieren.pdf>, en bijlage, zie https://dierenwelzijn.vlaanderen.be/sites/default/files/atoms/files/Bijlagen%20bij%20KB%2029%20mei%202013%20proefdieren_0.pdf
- OECD guidelines for testing chemicals, N° 203 (2019) Fish, acute toxicity test. Richtlijn 2010/63/EU van het Europees Parlement en de Raad van 22 september 2010 betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt. Publicatieblad van de Europese Unie L 276/33. Zie ook: https://dierenwelzijn.vlaanderen.be/sites/default/files/atoms/files/2010-09-22_Richtlijn_EU-2010-63_bescherming-proefdieren.pdf
- Uitvoeringsbesluit 2012/707/EU van de commissie van 14 november 2012 tot vaststelling van een gemeenschappelijk format voor de indiening van de informatie overeenkomstig Richtlijn 2010/63/EU van het Europees Parlement en de Raad betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt. Publicatieblad van de Europese Unie L 320 van 17.11.2012, Zie <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/36ef2c9c-33b4-11e2-84d0-01aa75ed71a1/language-nl>
- Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de commissie van 16 april 2020 tot vaststelling van een gemeenschappelijk format en gemeenschappelijke inhoud voor de indiening van de informatie die door de lidstaten moet worden gerapporteerd overeenkomstig Richtlijn 2010/63/EU van het Europees Parlement en de Raad betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt en tot intrekking van Uitvoeringsbesluit 2012/707/EU van de Commissie. Zie: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32020D0569&from=nl>
- WAC/V/B/002. Ecotoxiciteitstest met vissen: acute toxiciteit voor zebravisembryo (*Danio rerio*).

BIJLAGE A: BEREIDING VAN CONTROLE- EN VERDUNNINGSMEDIUM

A.1 Bereiding stockoplossingen

Voor de bereiding van stockoplossingen met zouten worden reagentia met gekende analytische zuiverheid gebruikt.

- Calciumchloride: los 11.76 g calciumchloride dihydraat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) op in gedemineraliseerd water en leng aan tot 1 liter in een maatkolf.
- Magnesiumsulfaat: los 4.93 g magnesiumsulfaat heptahydraat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) op in gedemineraliseerd water en leng aan tot 1 liter in een maatkolf.
- Natriumbicarbonaat: los 2.52 g natriumbicarbonaat (NaHCO_3) op in gedemineraliseerd water en leng aan tot 1 liter in een maatkolf.
- Kaliumchloride: los 0.22 g kaliumchloride (KCl) op in gedemineraliseerd water en leng aan tot 1 liter in een maatkolf.

Deze oplossingen worden gelabeld en gedateerd, en kunnen gedurende 6 maanden donker en koel bij $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ bewaard worden.

A.2 Bereiding van verdunningsmedium

Elk van de 4 stockoplossingen wordt gebruikt bij een 1:40 verdunning. Een 1 liter maatkolf wordt ongeveer halfgevuuld met gedemineraliseerd water, en vervolgens wordt 25 ml van elk van de 4 stocks in de maatkolf toegevoegd, waarna er aangelengd wordt tot 1 liter met gedemineraliseerd water.

Deze oplossing wordt belucht tot minstens 90% zuurstofverzadiging en stabiele pH. Vervolgens wordt de pH gecontroleerd en als nodig bijgesteld met NaOH of HCl tot $\text{pH } 7.8 \pm 0.5$.

Het medium (ook viswater genoemd) is gereed voor gebruik of kan koel $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ en donker bewaard worden gedurende maximum 3 maanden. De samenstelling van het medium is conform het ISO 7346- 1 standaard dilutie medium (**Tabel 4**).

Het verdunningsmedium of viswater wordt op de gewenste testtemperatuur gebracht en belucht voor gebruik in de testen.

Tabel 4: Samenstelling van controle- en verdunningsmedium (viswater) in de vis test

Zout	Concentratie (mg/l)
NaHCO_3	63
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	294
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	123.3
KCl	5.5

BIJLAGE B: KWALITEITSCONTROLE LEIDINGWATER (OECD 203, 2019)

Parameter	Maximum concentration
Particulate matter	5 mg/L
Total organic carbon (TOC) ¹¹	2 mg/L
Un-ionised ammonia (NH ₃)	1 µg/L
Nitrate (NO ₃)	<9 mg/L ¹²
Residual chlorine	10 µg/L
Total organophosphorus pesticides	50 ng/L
Total organochlorine pesticides plus polychlorinated biphenyls	50 ng/L
Total organic chlorine	25 ng/L
Aluminium (Al)	1 µg/L
Arsenic (As)	1 µg/L
Chromium (Cr)	1 µg/L
Cobalt (Co)	1 µg/L
Copper (Cu) ¹³	1 µg/L
Iron (Fe)	1 µg/L
Lead (Pb)	1 µg/L
Nickel (Ni)	1 µg/L
Zinc (Zn)	1 µg/L
Cadmium (Cd)	100 ng/L
Mercury (Hg)	100 ng/L
Silver (Ag)	100 ng/L
Chemical oxygen demand (COD) ¹⁴	5 mg/L

¹¹ High levels of total organic carbon (TOC) are an indication of high amounts of dissolved organic carbon (DOC), which potentially bind with the test chemical (organic chemicals and metal compounds that demonstrate sorption) and therefore reduce the bioavailable amount as well as the toxicity of the test chemical. DOC is operationally defined as organic molecules that pass through a filter, most often 0.45 µm.

¹² "A maximum level of 2 mg NO₃-N/L would be appropriate for protecting the most sensitive freshwater species"; equaling 8.85 mg NO₃/L (Camargo JA, Alonso A, Salamanca A. 2005. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. Chemosphere 58(9):1255-67.

¹³ Note that copper pipes or compositions containing copper (alloys) may cause fish to die (LC₅₀ fathead minnow: 0.073 mg/L).

¹⁴ COD or TOC should be measured.

Prestatiekenmerken

INHOUD

1	DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED	4
2	TERMEN EN DEFINITIES	5
2.1	<i>Juistheid (Eng: Trueness)</i>	5
2.2	<i>Precisie (Eng.: Precision)</i>	6
2.3	<i>Herhaalbaarheid (Eng: Repeatability)</i>	6
2.4	<i>Reproduceerbaarheid (Eng.: Reproducibility)</i>	6
2.5	<i>Meetonzekerheid (Eng: Expanded uncertainty)</i>	7
2.6	<i>Selectiviteit en specificiteit (Eng: Selectivity, Specificity)</i>	7
2.7	<i>Aantoonbaarheidsgrens (Eng: Limit of detection)</i>	7
2.8	<i>Bepalingsgrens (Eng: Limit of quantitation)</i>	8
2.9	<i>Lineariteit (Eng: Linearity)</i>	8
2.10	<i>Werkgebied of bereik (Eng: Range, Measuring range, Working range)</i>	8
2.11	<i>Robuustheid (Eng: Ruggedness, Robustness)</i>	9
2.12	<i>Analyse</i>	9
3	ALGEMEEN VALIDATIEPLAN	10
3.1	<i>Selectie van de te bepalen prestatiekenmerken</i>	10
3.2	<i>Bepaling van het toepassingsgebied en eventuele deelgebieden bij de validatie</i>	11
3.3	<i>Omgang met externe eisen</i>	11
3.4	<i>Keuze van de monsters voor een validatieonderzoek</i>	12
4	ALGEMENE PROCEDURE VOOR DE BEPALING VAN DE AFZONDERLIJKE PRESTATIEKENMERKEN	13
4.1	<i>Juistheid</i>	13
4.1.1	<i>Meervoudige analyse van een referentiemateriaal</i>	13
4.1.2	<i>Terugvindingsexperimenten op een geselecteerd monster</i>	14
4.1.3	<i>Evaluatie van de terugvinding en/of afwijking ten opzichte van de referentiewaarde voor verschillende monsters</i>	14
4.2	<i>Herhaalbaarheid en intra-reproduceerbaarheid</i>	15
4.2.1	<i>Meervoudige analyse van hetzelfde monster</i>	16
4.2.2	<i>Duplo-analyse van verschillende monsters</i>	16
4.3	<i>Selectiviteit en robuustheid</i>	17
4.4	<i>Aantoonbaarheidsgrens en bepalingsgrens</i>	18
4.4.1	<i>Meervoudige analyse van een praktijkmonster met laag gehalte</i>	18
4.4.2	<i>Duplo-analyse van verschillende praktijkmonsters met laag gehalte</i>	18
4.5	<i>Lineariteit - modelafwijking</i>	19
4.6	<i>Werkgebied</i>	20

5	REFERENTIES	21
	BIJLAGE A RICHTLIJNEN MET BETREKKING TOT ADDITIE	23
A.1	ALGEMENE RICHTLIJNEN VOOR ADDITIE	23
A.2	SPECIFIEKE RICHTLIJNEN VOOR ADDEREN VAN VERSCHILLENDE MATRICES VOOR ORGANISCHE PARAMETERS	23
A.2.1	Adderen aan vloeistoffen	23
	BIJLAGE B MINIMALE EISEN MET BETREKKING TOT BEPALINGSGRENZEN	24
B.1	ANORGANISCHE PARAMETERS	24
B.2	ORGANISCHE PARAMETERS	32

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Het toepassingsgebied is verruimd tot alle analysemethoden. De aanpak voor het onderzoek inzake de gelijkwaardigheid van methoden wordt niet meer opgenomen vermits een statistische benadering voor gelijkwaardigheid een aantal beperkingen inhoudt qua matrices, concentratiegebied, enz. Het oordeel van expert(en) is doorslaggevend voor de uitspraak inzake de gelijkwaardigheid van analysemethoden.

Analyseresultaten zijn slechts benaderingen van de ware waarde. De mate waarin analyseresultaten kunnen afwijken wordt gekwantificeerd met prestatiekenmerken. Zij weerspiegelen de prestatie (performantie) van een analysemethode onder verschillende omstandigheden. Het maatschappelijk belang van metingen maakt het noodzakelijk om voldoende inzicht te hebben in de mogelijkheden en beperkingen van de gebruikte analysemethoden.

De validatie van een analysemethode wordt gedefinieerd als het aantonen dat de (beschreven) analysemethode geschikt is voor de beoogde toepassing. Dit impliceert het vaststellen van de relevante prestatiekenmerken van de analysemethode en het evalueren van de geschiktheid voor het beoogde doel. Dit wordt in ISO 8402 als volgt verwoord: 'confirmation by examination and provision of objective evidence that the particular requirements for a specified intended use are fulfilled'. Hierbij dient vermeld te worden dat in de huidige praktijk er niet steeds duidelijkheid is betreffende externe eisen (uit regelgeving, contracten, ...) en de status ervan.

Methoden moeten gevalideerd worden telkens wanneer het nodig is om te verifiëren dat de prestatiekenmerken geschikt zijn voor toepassing bij een specifiek analytisch probleem. Dit is bijvoorbeeld zo voor nieuwe analysemethoden die met een bepaald doel ontwikkeld zijn, maar ook voor reeds gevalideerde analysemethoden die aangepast of uitgebreid worden, die blijkens de kwaliteitscontrole met de tijd veranderen, die in een ander laboratorium of door andere analisten of met andere apparatuur gebruikt worden, ... De verkregen prestatiekenmerken zijn daarom alleen geldig voor het desbetreffende laboratorium, en de uitvoeringsomstandigheden (analysemethode, ...) dienen hierbij te zijn vastgelegd. De uitgebreidheid van een (her)validatie hangt af van de mate van verandering. Eurachem en de nationale accreditatie-organismen zoals Belac stellen dat een minimale validatie steeds aangewezen is, ook indien een genormeerde analysemethode toegepast wordt.

Met betrekking tot de te valideren parameters kan men een onderscheid maken tussen kwalitatieve analysemethoden, kwantitatieve analysemethoden op hoog concentratieniveau en kwantitatieve analysemethoden op laag concentratieniveau. De meerderheid van de milieu-analysemethoden behoren tot laatstgenoemde categorie en bijgevolg is deze procedure ook hoofdzakelijk op dit type methoden gericht. Algemeen dient bij dergelijke validatie steeds maximale aandacht aan juistheid en precisie geschonken te worden en, indien relevant, ook aan de aantoonbaarheidsgrens.

Van elk validatieonderzoek wordt een apart rapport gemaakt, dat voldoet aan vooraf vastgelegde regels wat betreft opbouw, inhoud, beoordeling, goedkeuring en archivering.

Deze procedure behandelt enkel de intralaboratoriumvalidatie van analysemethoden voor fysische en chemische univariate grootheden. Voor de bepaling van prestatiekenmerken voor een groep van laboratoria worden o.a. in ISO 5725 procedures gegeven; de bepaling van dergelijke prestatiekenmerken vergt interlaboratoriumonderzoek.

2 TERMEN EN DEFINITIES

2.1 JUISTHEID (ENG: TRUENESS)

De juistheid van een analysemethode is de mate van overeenstemming tussen het gemiddelde van een reeks meetwaarden en de werkelijke waarde of de als werkelijk aangenomen waarde van de te bepalen grootte (cfr. ISO 3534-1). De gebruikelijke maat voor de juistheid is de bias b , die dus overeenkomt met de (positieve of negatieve) systematische fout¹.

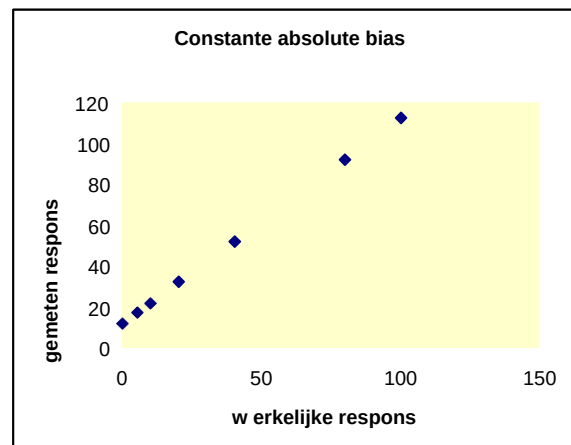
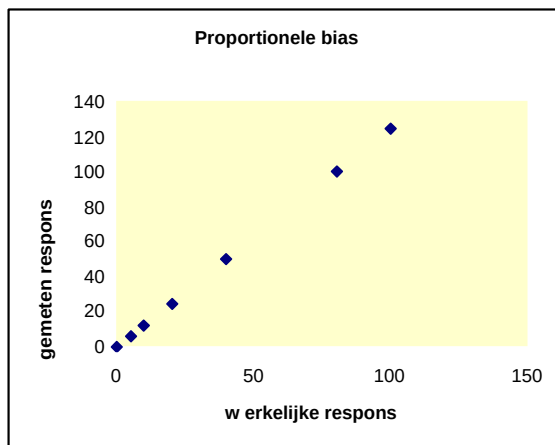
De verwijzing van juistheid naar de term accuraatheid (Eng. Accuracy), nauwkeurigheid of een afgeleide ervan wordt door Eurachem ontraden. In hun meest gangbare betekenis omvatten deze termen een combinatie van 'random' componenten en de 'bias' component, en sluiten ze dus meer aan bij de term meetonzekerheid.

Met de term terugvinding T (Eng: Recovery) wordt de fractie van de component bedoeld die bij analyse wordt teruggevonden, na toevoeging onder gedefinieerde omstandigheden van een bekende hoeveelheid component aan het monster. In dit document worden terugvindingsexperimenten als één van de mogelijke werkwijzen voor bepaling van de juistheid van een analysemethode beschouwd en wordt geen systematisch onderscheid gemaakt tussen de termen juistheid en terugvinding.

In het geval een (referentie)methode wordt opgelegd voor het meten van een welbepaalde grootte, kan juistheid eveneens worden geïnterpreteerd als zijnde de mate van overeenstemming tussen de meetwaarde van het laboratorium en de als werkelijk aangenomen waarde van de te bepalen grootte met dezelfde methode (gewoonlijk volgend uit een interlaboratoriumvergelijking). In dit geval spreekt men van de bias ten opzichte van een methodegemiddelde. De keuze van de te rapporteren bias dient uit de context van de analyse-aanvraag duidelijk te zijn, en zo nodig afgesproken te worden met de klant.

Er kan verder een opsplitsing gemaakt worden tussen twee gevallen van bias, namelijk constante absolute bias en proportionele bias. Bij proportionele bias is de relatieve afwijking op ieder concentratieniveau constant en wordt deze procentueel uitgedrukt. In het geval van absolute constante bias is de afwijking op ieder concentratieniveau, absoluut uitgedrukt, even groot. Onderstaande grafieken verduidelijken beide gevallen van juistheidseffecten ten opzichte van het ideale geval (diagonaal). Voor hogere gehalten overheerst het proportionele deel van de juistheid meestal het constante deel. Voor gehalten nabij de aantoonbaarheidsgrens spelen proportionele juistheidseffecten een ondergeschikte rol.

¹ In principe is de systematische afwijking een gemiddelde dat het resultaat is van een oneindig aantal metingen van dezelfde meetgrootte, uitgevoerd onder herhaalbaarheidscondities, verminderd met de ware waarde van de meetgrootte (cfr. NPR 2814).



2.2 PRECISIE (ENG.: PRECISION)

De precisie van een analysemethode is de mate van spreiding in de analyseresultaten die verkregen worden door de analysemethode een herhaald aantal malen onder vastgelegde condities op hetzelfde monster uit te voeren (cfr. ISO 3534-1). De gebruikelijke maat voor de precisie is de standaardafwijking of de variatiecoëfficiënt (relatieve standaardafwijking) van de testresultaten, dit wil zeggen dat de precisie wordt uitgedrukt als imprecisie. Naar de condities wordt normaal gerefereerd met de termen herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid.

2.3 HERHAALBAARHEID (ENG: REPEATABILITY)

Met herhaalbaarheid wordt bedoeld de precisie verkregen bij uitvoering van alle betreffende metingen door dezelfde analist, met dezelfde meetapparatuur, op zo dicht mogelijk bij elkaar gelegen tijdstippen (cfr. ISO 3534-1). De gebruikelijke maat is de herhaalbaarheidsstandaardafwijking s_r of de herhaalbaarheidsvariatiecoëfficiënt CV_r .

2.4 REPRODUCEERBAARHEID (ENG.: REPRODUCIBILITY)

Met reproduceerbaarheid wordt bedoeld de precisie verkregen bij uitvoering van alle betreffende metingen onder variabele omstandigheden, dit wil zeggen in verschillende laboratoriumruimten, door verschillende analisten, met verschillende apparaten en batches reagentia/standaarden, op verschillende tijdstippen met grotere tussenpozen (cfr. ISO 3534-1). Bij een uitspraak met betrekking tot reproduceerbaarheid dient bijgevolg aangegeven te worden welke condities veranderd werden.

Deze procedure richt zich enkel op de reproduceerbaarheid binnen een bepaald laboratorium (kortweg intra-reproduceerbaarheid), en als minimale eis hiervoor wordt vooropgesteld dat de factor tijd gevarieerd wordt, met andere woorden dat de betreffende analyses op verschillende dagen en in verschillende analysereeksen worden uitgevoerd (Eng.: Time-dependent intermediate precision). De gebruikelijke maat is de intra-reproduceerbaarheidsstandaardafwijking s_R of de intra-reproduceerbaarheids-variatiecoëfficiënt CV_R .

2.5 MEETONZEKERHEID (ENG: EXPANDED UNCERTAINTY)

De meetonzekerheid U wordt gedefinieerd als de halve lengte van een interval waarbinnen de ware waarde wordt verwacht te liggen, en dit bij een bepaald betrouwbaarheidsniveau. In ISO GUM wordt dit als volgt verwoord: 'Quantity defining an interval about a result of a measurement that may be expected to encompass a large fraction of the distribution of values that could reasonably be attributed to the measurand'.

In principe dient de meetonzekerheid alle factoren te omvatten die van invloed zijn op het resultaat, gecombineerd volgens gevestigde procedures. Relevante factoren zijn:

- de monsterbewaring in het laboratorium;
- de initiële monstervoorbehandeling (bijv. homogenisatie, droging, deelmonsterneming, ...);
- de monstervoorbereiding (bijv. extractie, ontsluiting, zuiveringen, ...);
- de eigenlijke meting van het preparaat (bijv. kalibratie, interferenties, ...) en
- de berekening van het analyseresultaat (bijv. correcties, ...).

In het kader van deze procedure is er van uitgegaan dat de meetonzekerheid zich beperkt tot het eigenlijke laboratoriumgebeuren (d.w.z. de vijf hoger vermelde stappen) en dat factoren zoals de monsterneming zelf (bijv. representativiteit, ...) en het transport van het monster naar het laboratorium (bijv. conservering, ...) niet per definitie opgenomen worden in de meetonzekerheid.

De prestatiekenmerken die de meetonzekerheid - of tenminste een gedeelte ervan - bepalen zijn de intra-reproduceerbaarheid van de analysemethode (voor wat de toevallige afwijking betreft) en de juistheid van de analysemethode (voor wat de systematische afwijking betreft). Door het in rekening brengen van een factor (Eng. coverage factor) op de toevallige afwijking wordt de waarschijnlijkheid dat de ware waarde in het interval ligt voldoende groot gemaakt.

Merk op dat meetonzekerheid geen prestatiekenmerk is, maar een karakteristiek van een meetwaarde. Mede om deze reden wordt meetonzekerheid in een apart deel nader bekeken (zie WAC/VI/A/002).

2.6 SELECTIVITEIT EN SPECIFICITEIT (ENG: SELECTIVITY, SPECIFICITY)

De selectiviteit van een analysemethode is de (on)afhankelijkheid van een andere grootheid dan de meetgrootte, met andere woorden de mate waarmee ze de te bepalen component in een mengsel of matrix kan onderscheiden van andere bestanddelen (cfr. IUPAC, NEN 7777). Bij een voldoende selectieve analyse worden de bepalingcondities zo gekozen dat de bijdragen van andere bestanddelen geëlimineerd worden of binnen de onzekerheidsmarge vallen. Deze potentiële bijdragen betreffen zowel interferenties (vanwege grootheden die zelf een signaal veroorzaken) als matrixeffecten (vanwege grootheden die het signaal van de meetgrootte veranderen).

Een analysemethode is specifiek als ze enkel reageert op de te bepalen component (cfr. AOAC, IUPAC). Specificiteit kan dus beschouwd worden als de ultieme selectiviteit. Het gebruik van deze term wordt door IUPAC ontraden.

2.7 AANTOONBAARHEIDSGRENS (ENG: LIMIT OF DETECTION)

De aantoonbaarheidsgrens AG (ook wel detectielimiet genoemd) is de kleinste hoeveelheid stof of laagste concentratie van de component in het monster die met een bepaalde (en redelijke)

statistische waarschijnlijkheid met de analysemethode aangetoond kan worden, met andere woorden waarvan de aanwezigheid nog met een bepaalde (on)zekerheid kan worden vastgesteld (cfr. AOAC, IUPAC). Het is bijgevolg een kwalitatief criterium.

In de gebruikelijke operationele definitie wordt het aspect waarschijnlijkheid in rekening gebracht door de aantoonbaarheidsgrens gelijk te stellen aan 3 maal de standaardafwijking op dit niveau (cfr. IUPAC). De aantoonbaarheidsgrens is aldus de waarde van de meetgrootte waarbij de variatiecoëfficiënt bij conventie 33% bedraagt. Voor meer achtergrondinformatie hieromtrent wordt verwezen naar NEN 7777 en de daarin opgenomen referenties.

2.8 BEPALINGSGRENS (ENG: LIMIT OF QUANTITATION)

De bepalingsgrens, BG, wordt gedefinieerd als de kleinste hoeveelheid stof of laagste concentratie van de component in het monster die met een bepaalde (en redelijke) precisie en juistheid met de analysemethode gekwantificeerd kan worden, met andere woorden waarvan de meetwaarde nog met een bepaalde (on)zekerheid kan worden vastgesteld. In tegenstelling tot de aantoonbaarheidsgrens is de bepalingsgrens een kwantitatief criterium.

Pragmatisch wordt de bepalingsgrens in het kader van deze procedure gelijk gesteld aan 6 maal de standaardafwijking in eenheden van de meetgrootte. Bijgevolg is de bepalingsgrens die waarde van de meetgrootte waarbij de variatiecoëfficiënt 17% bedraagt.

2.9 LINEARITEIT (ENG: LINEARITY)

De lineariteit van een analysemethode is de eigenschap dat binnen vastgelegde grenzen er een rechtlijnig verband bestaat tussen de respons en de hoeveelheid (concentratie) van de te bepalen component. Het lineair gebied is het overeenkomstig werkgebied.

Indien niet aan lineariteit is voldaan, dient het werkgebied te worden versmald of moet worden overgeschakeld op een andere (bv. kwadratische) functie tussen respons en hoeveelheid (concentratie) van de te bepalen component.

Met het begrip modelafwijking wordt algemeen de afwijking ("lack of fit") bedoeld van het aangenomen verband tussen meetgrootte en respons.

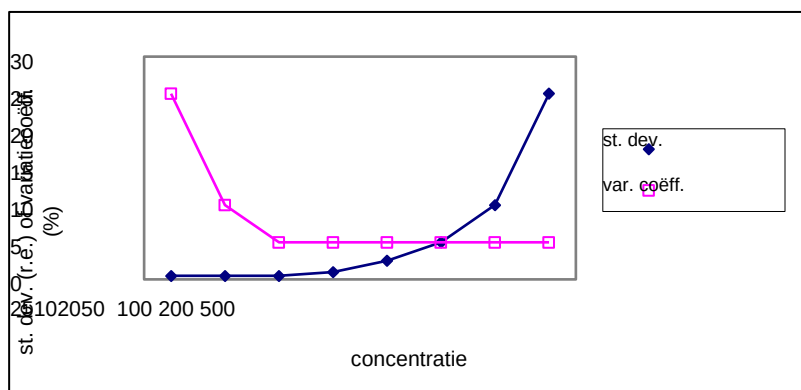
2.10 WERKGEBIED OF BEREIK (ENG: RANGE, MEASURING RANGE, WORKING RANGE)

Als extrapolatie van de IUPAC-definitie die instrumentgericht is, wordt het werkgebied van een analysemethode gedefinieerd als het interval tussen de kleinste en de grootste hoeveelheid (concentratie) van de te bepalen component waarvoor de analysemethode gevalideerd is, met andere woorden waarbinnen de prestatiekenmerken aan gedefinieerde eisen voldoen.

Hieruit volgt dat een werkgebied meestal vooropgesteld wordt bij het begin van het validatieonderzoek, rekening houdend met bv. toestelgegevens, verwachte gehalten in monsters, van toepassing zijnde regelgeving, ... Bij een optimaal werkgebied kunnen courante concentraties probleemloos worden gemeten en liggen kritische (cfr. regelgeving) concentraties niet helemaal aan de uitersten van het werkgebied.

Men noemt een werkgebied homogeen indien over het hele werkgebied de standaardafwijking (standaard deviatie) constant is (homoscedasticiteit of homogeniteit van de varianties). In praktijk

is dit zelden het geval, behalve bij kleine werkgebieden; meestal is in het bovenste deel van het werkgebied de relatieve standaardafwijking constant (variatiecoëfficiënt) en neemt met andere woorden de standaardafwijking proportioneel toe met de concentratie.



r.e.: respons eenheid

2.11 ROBUUSTHEID (ENG: RUGGEDNESS, ROBUSTNESS)

Onder robuustheid van een methode wordt de ongevoeligheid van het analyseresultaat verstaan voor kleine variaties in uitvoering, omstandigheden en hoedanigheid van afvalstoffen, zoals deze in de praktijk kunnen voorkomen (cfr. AOAC, NEN 7777).

2.12 ANALYSE

In het kader van validatie-experimenten komt het begrip analyse, zoals verder in de tekst vermeld, neer op het zo getrouw mogelijk uitvoeren van de volledige reeks stappen welke een routinemonster in het laboratorium ondergaat, van de gebruikelijke monstervoorbehandeling (deelmonsterneming, ...) tot en met de meting en berekening. Op die manier omvatten de prestatiekenmerken en de meetonzekerheid het gehele laboratoriumgebeuren en karakteriseren ze op een correcte wijze de analysemethode, respectievelijk de meetwaarden, van het laboratorium.

Wat de monstervoorbehandeling betreft komen typisch volgende situaties voor:

- in routine ondergaat het laboratoriummonster in zijn geheel een bepaalde monstervoorbehandeling (homogenisatie, droging, ...) vooraleer een analyseportie wordt afgenomen: in dat geval wordt bij de validatie-experimenten voor elke bepaling uitgegaan van een nieuwe portie van het aldus initieel voorbehandelde monster en volgt deze portie verder volledig de voor routinemonsters gebruikelijke werkwijze;
- in routine wordt uit het laboratoriummonster op welbepaalde wijze een deelmonster genomen, dat vervolgens een verdere voorbehandeling (droging, ...) ondergaat of rechtstreeks gebruikt wordt bij de monstervoorbereiding: in dat geval wordt bij de validatie-experimenten voor elke bepaling uitgegaan van een nieuw, op de gebruikelijke manier bekomen, deelmonster uit het laboratoriummonster en volgt dit verder volledig de voor routinemonsters gebruikelijke werkwijze.

Voor de bepaling van parameters waarvoor het hele monster dient in behandeling te worden genomen of die onmiddellijke analyse vereisen (bv. zwevend stof, biologisch zuurstof verbruik, vluchtige organische stoffen...) kan het noodzakelijk zijn om - in het kader van validatie experimenten - bij de monsternamen verschillende deelmonsters te voorzien.

3 ALGEMEEN VALIDATIEPLAN

In het algemeen worden bij validatieonderzoek de volgende stappen doorlopen (cfr. NEN 7777):

- bepaal op basis van het doel en de status van de analysemethode welke prestatiekenmerken bepaald moeten worden;
- bepaal het toepassingsgebied (matrices en werkgebied) waarvoor de analysemethode gevalideerd moet worden, en in hoeveel deelgebieden dit praktisch moet opgesplitst worden;
- ga na of er externe eisen gelden voor (een deel van) de prestatiekenmerken, en zo ja welke vorm deze hebben;
- ga na welke monsters nodig zijn voor het validatieonderzoek;
- voer het validatieonderzoek uit;
- beoordeel de vastgestelde prestatie in vergelijking met eventuele externe eisen, of (bij ontbreken van externe kwantitatieve eisen) rechtstreeks ten opzichte van het gebruiksdoel;
- rapporteer de resultaten in een validatierapport.

3.1 SELECTIE VAN DE TE BEPALEN PRESTATIEKENMERKEN

Welke prestatiekenmerken bepaald dienen te worden, is vooral afhankelijk van de status van de analysemethode die men wenst uit te voeren.

Voor volledig nieuwe analysemethoden (d.w.z. door het laboratorium geheel zelf ontwikkeld en niet eerder gevalideerd) geldt dat een complete validatie is vereist. Deze omvat altijd de volgende prestatiekenmerken:

- werkgebied;
- juistheid;
- intra-reproduceerbaarheid;
- selectiviteit;
- robuustheid.

indien relevant omvat deze verder:

- aantoonbaarheids- en bepalingsgrens;
- herhaalbaarheid;
- lineariteit, of meer algemeen modelafwijking.

Meestal echter zullen laboratoria bij voorkeur de referentiemethoden overnemen. Dit zijn wettelijk vastgelegde of door de bevoegde overheid aanbevolen analysemethoden, vastgelegd in bijvoorbeeld een compendium of in internationale normen. Indien zulke analysemethode zonder wijzigingen wordt overgenomen, volstaat het in principe aan te tonen dat de essentiële prestatiekenmerken in overeenstemming zijn met de gedocumenteerde en/of met het gebruiksdoel. De uit te voeren validatie omvat dan minimaal:

- juistheid;
- intra-reproduceerbaarheid.

en indien relevant tevens:

- werkgebied;
- aantoonbaarheids- en bepalingsgrens;
- herhaalbaarheid;
- selectiviteit.

Voor een gewijzigde analysemethode, d.i. een analysemethode die reeds was gevalideerd maar waarin een verandering is aangebracht, is een hervalidatie nodig gericht op die prestatiekenmerken die redelijkerwijs door de verandering kunnen beïnvloed worden.

3.2 BEPALING VAN HET TOEPASSINGSGEBIED EN EVENTUELE DEELGEBIEDEN BIJ DE VALIDATIE

Prestatiekenmerken hebben slechts betekenis bij ondubbelzinnig gedefinieerde analyseobjecten en analyseresultaten. Als de analyseprocedure hierover onvoldoende duidelijkheid verschaft, dient voorafgaand aan de validatie een duidelijke interpretatie te worden opgesteld en opgenomen in het validatierapport. Dit geldt bijvoorbeeld voor het aantal onderliggende metingen van een analyseresultaat (één of gemiddelde) en voor eventuele toegepaste correcties (voor extractiestandaarden, procedureblanco, ...). Ook het beoogde toepassingsgebied moet van tevoren worden gespecificeerd, nl. welke matrices (inclusief mogelijke interferenten) en welk werkgebied (eventueel per matrix).

Uitgangspunt is dat bij validatie gelijkaardige matrices zoveel mogelijk worden gecombineerd in één toepassingsgebied. In sommige gevallen kan het wenselijk zijn verschillende deelgebieden (zowel qua matrix als werkgebied) te onderscheiden en afzonderlijk te valideren. De belangrijkste overweging hierbij is voorkennis van, of twijfel over, de effecten van bepaalde interferenten.

In bepaalde gevallen kan worden volstaan met een validatie in de “moeilijkste” matrix. Dit geldt enkel voor zover sprake is van een ondubbelzinnige gradatie, en dient zo nodig per prestatiekenmerk bekeken te worden. Zo kan bijvoorbeeld gebruik gemaakt worden van sterk matrixbelaste afvalwaters om een methode te valideren voor huishoudelijk en industrieel afvalwater, en dergelijke, en kan de op basis van zulke monsters bekomen precisie eventueel aangewend worden als een “worst case” waarde voor het betreffende concentratiebereik in andere watertypes zoals grondwater, oppervlaktewater en drinkwater.

Globaal wordt voor de afzonderlijk te beschouwen matrices bij de validatie van analysemethoden voor water en waterige oplossingen van milieumatrices volgende vuistregel vooropgesteld:

- drinkwater
 - afvalwater
- bijkomend dienen specifieke prestatiekenmerken in oppervlaktewater en/of grondwater onderzocht te worden, voor zover niet gedekt door de reeds gevalideerde matrices, tevens is aanvullend onderzoek met betrekking tot specifieke interferenten nodig voor zover van toepassing (bijvoorbeeld zeewater, zwembadwater,...)

3.3 OMGANG MET EXTERNE EISEN

Omdat de waarde van een prestatiekenmerk wordt verkregen door metingen, is hiermee een onzekerheid verbonden. Dit is vooral van belang wanneer moet getoetst worden of aan extern opgelegde absolute grenswaarden voldaan is. In dat geval moet aangetoond worden dat het prestatiekenmerk met een betrouwbaarheid van tenminste 95% voldoet aan de eis, met andere woorden dat de numerieke waarde van het prestatiekenmerk plus (resp. minus) de onzekerheid kleiner (resp. groter) is dan de bovengrens (resp. ondergrens).

Traditioneel worden externe eisen echter meestal als een zogenaamde geschatte grenswaarde beschouwd en kan worden volstaan met het rechtstreeks vergelijken van de numerieke waarde van het prestatiekenmerk met de grenswaarde.

In de regel geldt dat eventuele uitbijters in de verzamelde analyseresultaten alleen worden verwijderd als de oorzaak bekend is en deze niet de praktijksituatie weerspiegelt (bv. foutieve preparatie van een synthetisch monster, technisch defect meettoestel, ...).

3.4 KEUZE VAN DE MONSTERS VOOR EEN VALIDATIEONDERZOEK

Als algemene regel geldt dat de monsters zoveel mogelijk representatief moeten zijn voor het toepassingsgebied (of het deelgebied). In de verzameling validatiemonsters moeten dus de meest voorkomende matrices vertegenwoordigd zijn, op basis van inzicht in de relatieve aandelen van de verschillende monsters in de monsterstroom van het laboratorium. Eventueel kan de monsterselectie toegespitst worden op de “moeilijkste” matrix, rekening houdend met de onder punt 3.2 beschreven beperkingen.

Intra-reproduceerbaarheid, herhaalbaarheid, selectiviteit en robuustheid worden in principe bepaald op praktijkmonsters of monsters die hierop zoveel mogelijk gelijken (bijv. geaddeerde praktijkmonsters).

Voor validatie van de aantoonbaarheids- en bepalingsgrens gebruikt men, in volgorde van voorkeur, een praktijkmonster of representatief referentiemateriaal met gehalte nabij de verwachte aantoonbaarheidsgrens, een blanco praktijkmonster waaraan de te bepalen componenten werden geaddeerd tot een gehalte nabij de verwachte aantoonbaarheidsgrens, of een blanco praktijkmonster.

Voor validatie van de juistheid gebruikt men, in volgorde van voorkeur maar steeds de gelijkenis met praktijkmonsters voor ogen houdend:

- gecertificeerd referentiemateriaal en deelname aan interlaboratoriumtesten met herleidbare referentiewaarden, dit wil zeggen waarden gerelateerd aan een geschikte (bij voorkeur internationale) meetstandaard;
- geaddeerde praktijkmonsters waarvan de werkelijke waarde gebaseerd is op de gravimetrisch/volumetrisch toegevoegde hoeveelheid, deze kunnen zowel zelf aangemaakt zijn of deel uitmaken van een ‘proficiency testing’; hierbij dient opgemerkt te worden dat additie-experimenten te optimistische resultaten kunnen opleveren omdat het toegevoegde deel van de component niet op dezelfde wijze in het monster opgenomen wordt als het oorspronkelijke deel;
- rondzendmonsters met een consensuswaarde (bijv. gemiddelde waarde uit ‘proficiency testing’ schema’s) waarbij verschillende/gelijke methoden werden toegepast;
- niet-gecertificeerd referentiemateriaal en/of praktijkmonsters met een waarde die onafhankelijk is van het te valideren systeem, bijvoorbeeld bepaald met een andere methode waarvan de bias gekend is.

Voor de bepaling van de bias ten opzichte van een methodegemiddelde kan een gecertificeerd referentiemateriaal of een rondzendmonster met een consensuswaarde (bijvoorbeeld gemiddelde waarde uit ringtest) worden gebruikt, mits voor de berekening van de gecertificeerde waarde of consensuswaarde enkel meetresultaten, bekomen met dezelfde methode, werden verwerkt. Deze consensuswaarde kan verschillen van de werkelijke waarde.

Voor evaluatie van de lineariteit gebruikt men dezelfde matrix als bij de kalibratie (dit is meestal standaardoplossing, doch bij sommige technieken ook monster).

4 ALGEMENE PROCEDURE VOOR DE BEPALING VAN DE AFZONDERLIJKE PRESTATIEKENMERKEN

4.1 JUISTHEID

Hieronder worden eerst twee klassieke werkwijzen behandeld, nl. meervoudige analyse van een referentiemateriaal (met gekende ware waarde) en uitvoering van terugvindingsexperimenten op een geselecteerd monster.

Indien de juistheid slechts bij één concentratieniveau gevalideerd wordt, ligt dit bij voorkeur nabij de kritische waarde volgens de regelgeving, in het gebied tussen de typische waarden voor praktijkmonsters en deze kritische waarde. Bij onderzoek op meer dan één concentratieniveau (wat overigens aanbevolen wordt door Eurachem) kiest men deze tenminste een factor 10 uit elkaar.

Verder wordt een alternatieve werkwijze beschreven, namelijk evaluatie van de terugvinding en/of afwijking ten opzichte van de referentiewaarde voor verschillende monsters. Hierbij kan niet enkel de terugvinding van addities op verschillende monsters en/of verschillende concentratieniveau's gebruikt worden, maar eveneens resultaten bekomen via deelname aan 'proficiency testing' schema's (interlaboratoriumtesten), vergelijkende resultaten t.o.v. een referentiemethode, ... Deze werkwijze is vooral aangewezen indien er twijfel bestaat over het effect van diverse matrices binnen het toepassingsgebied (of desgevallend deelgebied) op de prestatiekenmerken juistheid en/of selectiviteit (matrixeffect).

Elk van de klassieke werkwijzen levert, naast informatie over de juistheid, simultaan informatie over de intra-reproduceerbaarheid van de analysemethode.

4.1.1 MEERVOUDIGE ANALYSE VAN EEN REFERENTIEMATERIAAL

Indien voor het toepassingsgebied (of desgevallend een deelgebied) een monster met een ware waarde of consensuswaarde beschikbaar is, voer dan hierop minstens 5 analyses (cfr. punt 2.12) uit, onder intra-reproduceerbaarheidsomstandigheden (op verschillende dagen, met weerspiegeling van typische laboratoriumomstandigheden qua uitvoerende analisten, kalibratie, ...). Bereken het gemiddelde van de bekomen meetwaarden. De bias wordt gegeven door:

$$b_{c(\text{rel})} = \frac{X_{\text{gem}} - C_{\text{ref}}}{C_{\text{ref}}} \times 100(\%) \quad (\text{in geval van een proportionele bias als } \%),$$

of

$$b_{c(\text{abs})} = X_{\text{gem}} - C_{\text{ref}} \quad (\text{in geval van een constante absolute bias}),$$

met:

$b_{c(\text{rel})}$ procentuele bias (bij een waarde c van de meetgrootheid)

$b_{c(\text{abs})}$ absolute bias (bij een waarde c van de meetgrootheid) X_{gem} gemiddelde waarde van de meetgrootheid

C_{ref} ware waarde van het referentiemateriaal

De juistheid (uitgedrukt in %) wordt dan gegeven door $(100 + b_{c(\text{rel})})$.

De situatie van een constante absolute bias kan zich ondermeer voordoen in een laag concentratiegebied, bij een constante ongekende interferentie.

Indien binnen een bepaald toepassingsgebied op verschillende referentiematerialen dergelijke meervoudige analyse is uitgevoerd, wordt de juistheid bij voorkeur berekend door uit te middelen over de geanalyseerde afvalstoffen. Hierbij dient de zin van de afwijking (+ of -) mee in rekening te worden gebracht en dient desgevallend onderscheid gemaakt te worden tussen de situaties proportionele of constante absolute bias.

4.1.2 TERUGVINDINGSEXPERIMENTEN OP EEN GESELECTEERD MONSTER

Indien geen geschikt monster met een ware waarde of consensuswaarde beschikbaar is en de component op een representatieve manier aan het monster kan toegevoegd worden, is een terugvindingsexperiment de meest aangewezen benadering. Een nadeel hiervan is dat bepaalde systematische afwijkingen, bijvoorbeeld veroorzaakt door interferenties, niet kunnen worden vastgesteld.

Neem hiervoor minstens 10 deelmonsters (cfr. Punt 2.12) en voeg aan de helft een bekende hoeveelheid van de component zo representatief mogelijk toe, waardoor de meetgrootte met Δc wordt verhoogd. Richtlijnen met betrekking tot de werkwijze voor additie worden gegeven in BIJLAGE A.

Bepaal per monster de terugvinding uit het analyseresultaat voor het monster zonder en het monster met toevoeging van de component. Voer beide metingen zoveel mogelijk onder dezelfde omstandigheden uit, dit wil zeggen in dezelfde analysereeks. Voer minstens 5 dergelijke paren analyses onder intra-reproduceerbaarheidsomstandigheden uit (dit wil zeggen elk paar op een andere dag, met weerspiegeling van typische laboratoriumomstandigheden qua uitvoerende analisten, kalibratie, ...).

Bereken voor elk van de experimenten de terugvinding (uitgedrukt in %) als:

$$T_{\Delta c, i} = \frac{X_{c+\Delta c, i} - X_{c, i}}{\Delta c} \times 100(\%)$$

met:

$T_{\Delta c, i}$	procentuele terugvinding bij het i-de experiment (bij toevoeging Δc van de meetgrootte)
$X_{c+\Delta c, i}$	i-de analyseresultaat voor waarde c met additie Δc van de meetgrootte
$X_{c, i}$	i-de analyseresultaat voor waarde c van de meetgrootte
Δc	geaddieerde waarde van de meetgrootte

Bereken van de aldus bekomen terugvindingen de gemiddelde waarde T , welke een maat is voor de juistheid, uitgedrukt in %. De procentuele bias kan berekend worden uit $bc\ rel = T - 100$.

4.1.3 EVALUATIE VAN DE TERUGVINDING EN/OF AFWIJING TEN OPZICHTE VAN DE REFERENTIEWAARDE VOOR VERSCHILLENDE MONSTERS

Voor wat addities betreft, gelden bij deze methode dezelfde randvoorwaarden en beperkingen als beschreven onder punt 4.1.2.

Voeg aan een deelmonster van een reeds eerder geanalyseerd monster een bekende hoeveelheid van de component zo representatief mogelijk toe, waardoor de meetgrootte met Δc wordt verhoogd. Analyseer dit monster met additie in dezelfde meetreeks, zoveel mogelijk onder dezelfde omstandigheden als het oorspronkelijk monster. Voer in totaal 5-10 dergelijke terugvindingsanalyses uit op verschillende monsters en concentratieniveaus, er over wakend dat deze als geheel de praktijksituatie zo goed mogelijk vertegenwoordigen. Voer de verschillende analyses op monsters met additie onder intra-reproduceerbaarheidsomstandigheden uit (op verschillende dagen, met weerspiegeling van typische laboratoriumomstandigheden qua uitvoerende analisten, kalibratie, ...).

Bereken voor elk van de minstens 5 experimenten de terugvinding (uitgedrukt in %) uit het analyseresultaat voor het monster zonder en het monster met toevoeging van de component (voor formule zie punt 4.1.2). Bereken van de aldus bekomen terugvindingen de gemiddelde waarde. De procentuele bias kan berekend worden uit $bc\ rel = T - 100$.

Bij deze werkwijze kunnen, naast terugvindingen bekomen via een additie-experiment, eveneens terugvindingen afgeleid uit de deelname aan 'proficiency testing' schema's, uit vergelijking van de methode t.o.v. een referentiemethode, ..., gebruikt worden. Hierbij blijft het belangrijkste uitgangspunt het gebruik van verschillende monsters, waarbij deze qua matrix en concentratieniveau het toepassingsgebied zo goed mogelijk moeten dekken.

4.2 HERHAALBAARHEID EN INTRA-REPRODUCEERBAARHEID

De algemene procedure voor het bepalen van de prestatiekenmerken herhaalbaarheid en intra-reproduceerbaarheid is dezelfde, met uitzondering van de analysecondities bij de experimenten (cfr. punt 2.3 en 2.4). Voor intra-reproduceerbaarheid wordt minstens de factor tijd bijkomend gevarieerd (uitvoering van de herhalingsanalyses op verschillende dagen) en voor zover relevant ook andere bronnen van variatie (analist, apparaat, kalibratie, ...). De bedoeling is om een zo goed mogelijke afspiegeling van de praktijksituatie te bekomen.

Er zijn twee klassieke werkwijzen, namelijk herhaalde analyse van hetzelfde monster en duplo-analyse van verschillende monsters (zie punt 0 en 4.2.2). Eerstgenoemde benadering heeft als nadeel dat de informatie *sensu strictu* beperkt blijft tot dat ene monster. Anderzijds geldt bij laatstgenoemde benadering in principe de beperkende voorwaarde dat óf de standaardafwijking óf de variatiecoëfficiënt niet mag afhangen van de waarde van de meetgrootte, wat vaak eveneens tot een klein meetbereik leidt.

Indien, volgens eerstgenoemde werkwijze, de precisie slechts bij één concentratieniveau gevalideerd wordt, ligt dit bij voorkeur nabij de kritische waarde volgens de regelgeving, in het gebied tussen de typische waarden voor praktijkmonsters en deze kritische waarde. Bij onderzoek op meer dan één concentratieniveau (wat overigens voor herhaalbaarheidsonderzoek aanbevolen wordt door Eurachem) kiest men deze tenminste een factor 10 uit elkaar.

In praktijk zal een analysemethode, na ingebruikname, meestal ook opgevolgd worden aan de hand van een relevant controlemonster, zodat voor periodieke herevaluatie van de intra-reproduceerbaarheid ook de resultaten van deze eerstelijnscontrole als input gebruikt kunnen worden.

4.2.1 MEERVOUDIGE ANALYSE VAN HETZELFDE MONSTER

Voer op een volgens de aanbevelingen in punt 3.4 gekozen monster, desgevallend per deelgebied, minstens 5 analyses (cfr. punt 2.12) uit onder herhaalbaarheidscondities, respectievelijk intra-reproduceerbaarheidscondities. Bereken hieruit de herhaalbaarheidsstandaardafwijking s_r , respectievelijk intra-reproduceerbaarheidsstandaardafwijking s_R , als:

$$s = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

s = standaardafwijking, in eenheid analyseresultaat
 n = aantal analyses, $n \geq 5$
 x_i = i-de analyseresultaat
 $\bar{x}$ = gemiddelde van n analyseresultaten

Bij gebrek aan een geschikt monster kan eventueel gebruik gemaakt worden van een praktijkmonster waaraan een gepaste hoeveelheid van de component is geaddeerd, dit voor zover de geaddeerde component zoveel mogelijk op dezelfde wijze in het monster opgenomen is als de component van het praktijkmonster. Voor richtlijnen met betrekking tot additie wordt verwezen naar BIJLAGE A.

4.2.2 DUPLO-ANALYSE VAN VERSCHILLENDE MONSTERS

Kies de grootte van het (deel)gebied zo dat redelijkerwijs mag worden verondersteld dat óf de standaardafwijking óf de variatiecoëfficiënt van de analyseresultaten niet afhangt van de waarde van de meetgrootte. Veelal neigt de spreiding ruim boven de aantoonbaarheidsgrens naar proportionaliteit en mag in dit deel van het werkgebied de variatiecoëfficiënt constant verondersteld worden. Nabij de aantoonbaarheidsgrens mag daarentegen de standaardafwijking veelal constant verondersteld worden (cfr. punt 2.10).

Gebruik monsters volgens de aanbevelingen in punt 3.4. Analyseer (cfr. punt 2.12), desgevallend per deelgebied, minstens 5 verschillende monsters in duplo. Bij het herhaalbaarheidsonderzoek dienen beide analyses van een paar onder herhaalbaarheidscondities uitgevoerd te worden. De verschillende monsters worden wel bij voorkeur op verschillende dagen geanalyseerd. Bij het intra-reproduceerbaarheidsonderzoek mogen beide analyses van een paar niet op dezelfde dag uitgevoerd worden en dient het geheel gespreid te worden over tenminste evenveel dagen als het aantal monsterparen.

Als voor het betreffende meetbereik de standaardafwijking onafhankelijk mag worden verondersteld van de waarde van de meetgrootte (homogeniteit van de varianties), dan mogen de n standaardafwijkingen uit duplo's worden samengevoegd en kan s_r , resp. s_R , berekend worden als (NEN 7777: 2011; AP 04 SG: 1998):

$$s = \frac{\sum_{i=1}^n (x_{i1} - x_{i2})^2}{2n}$$

s = standaardafwijking, in eenheid analyseresultaat
 n = aantal monsters in duplo geanalyseerd, $n \geq 5$
 x_{i1} = eerste analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i
 x_{i2} = tweede analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i

Als voor het betreffende meetbereik de variatiecoëfficiënt onafhankelijk mag worden verondersteld van de waarde van de meetgrootte, dan mogen de n variatiecoëfficiënten uit duplo's worden samengevoegd en kan de variatiecoëfficiënt CV_r , resp. CV_R , worden berekend uit de genormaliseerde verschillen als (NEN 7777: 2011; AP 04 SG: 1998):

$$CV = \frac{\sum_{i=1}^n \left(\frac{x_{i1} - x_{i2}}{0.5(x_{i1} + x_{i2})} \right)^2}{2n} \times 100(\%)$$

CV = variatiecoëfficiënt, in %
n = aantal monsters geanalyseerd, $n \geq 5$ in duplo
 x_{i1} = eerste analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i
 x_{i2} = tweede analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i

4.3 SELECTIVITEIT EN ROBUUSTHEID

Afzonderlijke selectiviteitsproeven zijn enkel zinvol in die gevallen waarbij de invloed onvoldoende wordt afgedekt door een ander prestatiekenmerk zoals juistheid. Experimenten hieromtrent situeren zich vaak eerder in het ontwikkelingsstadium van een analysemethode dan in het validatiestadium.

Kies om het effect van een bepaalde invloedsgrootte te onderzoeken zo mogelijk een praktijkmonster, volgens de aanbevelingen in punt 3.4. Voeg aan verschillende deelmonsters een telkens toenemende hoeveelheid van de invloedsgrootte toe, zo representatief mogelijk en met minimale verdunning als gevolg. Analyseer de aldus bekomen monsters onder herhaalbaarheidscondities en bepaal de verandering van het analyseresultaat als gevolg van een verandering van de waarde van de invloedsgrootte. Al naargelang de voorkennis kan het noodzakelijk zijn om bovenvermelde proef uit te voeren in het onderste en bovenste deel van het werkgebied.

In geval er geen enkele voorkennis is met betrekking tot interferenten en er geen referentiematerialen beschikbaar zijn, kan de selectiviteit als volgt onderzocht worden:

- het analyseren van praktijkmonsters met de betreffende analysemethode en met een andere onafhankelijke analyse- of meetmethode (ander scheidings- en/of detectieprincipe);
- het analyseren van opeenvolgende, steeds grotere, verdunningen van praktijkmonsters (op voorwaarde dat de te bepalen component in voldoende hoge concentratie aanwezig is om nog in verdunning gemeten te kunnen worden).

Robuustheid is impliciet begrepen in de intra-reproduceerbaarheid, en zal meestal evenmin een specifieke validatie behoeven. De verhouding tussen intra-reproduceerbaarheid en herhaalbaarheid kan worden gehanteerd als een maat voor (het gebrek aan) robuustheid. In het ideale geval zou deze verhouding 1 moeten bedragen, maar in praktijk zijn verhoudingen tot 1.5 tot 2 niet ongewoon.

Eventuele specifieke experimenten, gericht op de verandering van het analyseresultaat als gevolg van een verandering van de uitvoeringsomstandigheden, kunnen op gelijkaardige wijze opgezet worden als hierboven beschreven voor selectiviteitsonderzoek. Meestal zal het programma voor eerstelijns kwaliteitscontrole zodanig ontworpen worden dat de meest kritische variabelen, namelijk de variabelen met het grootste effect op de juistheid en precisie, expliciet gecontroleerd worden.

4.4 AANTOONBAARHEIDSGRENS EN BEPALINGSGRENS

In deze procedure wordt de aantoonbaarheidsgrens (AG) geoperationaliseerd als 3 maal de standaardafwijking op laag niveau (cfr. punt 2.7) en dit onder intra-reproduceerbaarheidscondities.

Hieronder worden twee benaderingen beschreven, nl. meervoudige analyse van een praktijkmonster met gehalte nabij de aantoonbaarheidsgrens en de duplo-analyse van verschillende praktijkmonsters met gehalte nabij de aantoonbaarheidsgrens.

Eerstgenoemde werkwijze is de meest klassieke maar heeft als nadeel dat de onzekerheid die het gevolg is van de aanwezigheid van interferenten in monsters, verschillende matrixeffecten en dergelijke niet gedekt wordt. Daarom kan de eigenlijke aantoonbaarheidsgrens onder praktijkomstandigheden hoger zijn. Deze beperking wordt enigszins ondervangen door de tweede werkwijze.

De bepalingsgrens wordt op dezelfde manier ingeschat, doch op basis van 6 maal de standaardafwijking.

Met de term 'gehalte nabij de aantoonbaarheidsgrens' (of 'laag gehalte') wordt een gehalte bedoeld dat bij voorkeur in het bereik tussen ca. 1 en 5 maal de aantoonbaarheidsgrens ligt en dat niet meer dan 10 maal de aantoonbaarheidsgrens bedraagt. Indien een parametergroep een groot aantal componenten (bijvoorbeeld >10) bevat kan het praktisch moeilijk zijn om een monster te vinden dat voor elke component ideaal is. In dergelijk geval mag voor enkele componenten van bovenvermelde beperking qua concentratiebereik afgeweken worden of mag de aantoonbaarheidsgrens geëxtrapoleerd worden uit soortgelijke componenten.

4.4.1 MEERVOUDIGE ANALYSE VAN EEN PRAKTIJKMONSTER MET LAAG GEHALTE

Gebruik hiervoor een monster volgens de aanbevelingen in punt 3.4. Analyseer het monster strikt volgens de gebruikelijke analyseprocedure (cfr. Punt 2.12). Analyseer het monster na één of meerdere dagen opnieuw, en vervolg dit totdat tenminste 5 analyseresultaten zijn verkregen. Voer de proeven zo uit dat het geheel de praktijksituatie (qua uitvoerende analisten, omgevingsomstandigheden, volgnummer in reeks, ...) weerspiegelt.

Bereken de standaardafwijking s_R uit de analyseresultaten en hieruit de aantoonbaarheidsgrens $AG_R = 3 s_R$.

Verhoog de waarde van de aantoonbaarheidsgrens met de gemiddelde waarde van de procedureblanco indien deze meetbaar is en een correctie voor de procedureblanco geen deel uitmaakt van de gebruikelijke analyseprocedure.

Wanneer verschillende praktijkmonsters met laag gehalte meervoudig geanalyseerd werden, wordt de hoogste van de bekomen waarden als uiteindelijke maat voor de aantoonbaarheidsgrens en bepalingsgrens, gehanteerd.

4.4.2 DUPLO-ANALYSE VAN VERSCHILLENDE PRAKTIJKMONSTERS MET LAAG GEHALTE

Gebruik monsters volgens de aanbevelingen in punt 3.4. Analyseer (cfr. punt 2.12) minstens 5 verschillende monsters in duplo, voer beide analyses van een paar niet op dezelfde dag uit en spreid het geheel over tenminste evenveel dagen als het aantal monsterparen.

Bereken s_R als (cfr. punt 4.2.2):

$$s_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_{i1} - X_{i2})^2}{2n}}$$

s_R = intra-reproduceerbaarheidsstandaardafwijking, in eenheid analyseresultaat
 n = aantal monsters in duplo geanalyseerd, $n \geq 5$
 X_{i1} = eerste analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i
 X_{i2} = tweede analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i

Bereken hieruit de aantoonbaarheidsgrens $AG_R = 3 s_R$.

Verhoog de waarde van de aantoonbaarheidsgrens met de gemiddelde waarde van de procedureblanco indien een correctie voor de procedureblanco geen deel uitmaakt van de gebruikelijke analyseprocedure.

4.5 LINEARITEIT - MODELAFWIJKING

Bij de bepaling van de alineariteit, of meer algemeen de modelafwijking ('lack-of-fit'), wordt de experimentele afwijking ten opzichte van het kalibratiemodel gekwantificeerd. Veelal betreft deze enkel het instrumentele gedeelte van de analyse. Hiervoor kunnen in praktijk de experimentele meetwaarden van een kalibratie gebruikt worden.

Leg het kalibratiemodel vast aan de hand van tenminste 6 verschillende concentratieniveau's, gespreid over het gehele werkgebied. Aanbevolen wordt om bij het validatieonderzoek eenmalig elk concentratieniveau in drievoud te meten, zodat kan nagegaan worden hoe de variantie van herhalingsmetingen varieert met de concentratie.

Voer op de bekomen resultaten een gepaste regressie-analyse uit. Indien er een proportioneel verband is tussen de variantie van herhalingsmetingen en de concentratie wordt best een gewogen regressie toegepast. Het louter gebruiken van een correlatiecoëfficiënt ter bepaling van de lineariteit wordt afgeraden omdat dit een maat is voor de correlatie, niet voor de lineariteit. Het weerhouden kalibratiemodel moet uiteraard ook gehanteerd worden bij de verdere praktijktoepassing van de analysemethode.

Bereken de modelafwijking voor een waarde c van de meetgrootheid als:

$$\delta_{c, \text{model}} = X_{c, \text{exp}} - X_{c, \text{model}}$$

met:

$X_{c, \text{exp}}$ experimentele meetwaarde of desgevallend de gemiddelde waarde van de herhalingsmetingen bij een waarde c van de meetgrootheid

$X_{c, \text{model}}$ berekende meetwaarde welke volgens het kalibratiemodel bekomen wordt voor een waarde c van de meetgrootheid

Zet de modelafwijkingen grafisch uit in functie van de meetgrootheid en verifieer of deze random verdeeld zijn, systematische trends wijzen op non-lineariteit. Grote procentuele afwijkingen zijn niet noodzakelijk een indicatie voor alineariteit, maar verdienen niettemin speciale aandacht omdat ze tot een slechte intra-reproduceerbaarheid en hoge meetonzekerheid kunnen leiden. Alternatief kan men de responsfactoren $RF_c = X_c / c$ (of relatieve responsfactoren, bij gebruik van een interne standaard) uitzetten en toetsen ten opzichte van een vastgelegde eis. Meestal houdt zulke eis rekening met de aard van de bepalingmethode.

Een tweede mogelijkheid is de kalibratiegegevens enerzijds met een lineair model en anderzijds met een kwadratisch model te evalueren (ISO 8466-1, 1990). Uit beide modellen wordt de residuele standaardafwijking s_{y1} en s_{y2} verkregen. Het verschil van de varianties DS^2 wordt als volgt berekend:

$$DS^2 = (N - 2)s_{y1}^2 - (N - 3)s_y^2$$

met:

N het aantal concentratieniveaus ($N \geq 6$)
 s_{y1}^2 residuele standaardafwijking bij lineair model
 s_{y2}^2 residuele standaardafwijking bij kwadratisch model
 het aantal vrijheidsgraden f is 1.

Vervolgens worden DS^2 en de variantie van de kwadratische kalibratiefunctie aan een F-test onderworpen om na te gaan of er significante verschillen bestaan. De testwaarde, F_{ber} , wordt bekomen uit:

$$F_{ber} = \frac{DS^2}{s_{y2}^2}$$

Indien $F_{ber} \leq F_{tabel}$, dan leidt de kwadratische functie niet tot een significant beter model, met andere woorden is de kalibratiefunctie lineair.

Indien $F_{ber} > F_{tabel}$, dan wordt het werkgebied verkleind om een lineaire kalibratiefunctie te verkrijgen, ofwel worden de meetwaarden van monsters met de kwadratische functie geëvalueerd.

Een derde mogelijkheid, weliswaar minder fundamenteel, is de berekening van een kwadratische functie, waarna gebruik gemaakt wordt van een t-test om te beoordelen of de coëfficiënt van de kwadratische term significant afwijkt van 0.

Bij vaststelling van een niet-lineair verband wordt aanbevolen om na te gaan hoe relevant het verschil is tussen een resultaat bekomen met een lineaire functie en met een kwadratische functie. Indien dit klein is vergeleken met de meetonzekerheid kan overwogen worden om toch met de lineaire vergelijking door te gaan en de corresponderende fout mee te verrekenen in de globale meetonzekerheid.

4.6 WERKGEBIED

De ondergrens van het werkgebied van een kwantitatieve analysemethode ligt in principe op of boven de bepalingsgrens en binnen het gebied waarvoor de lineariteit werd aangetoond.

Als vuistregel (streefwaarde) wordt in het kader van deze procedure vooropgesteld dat de rapportagegrens, de waarde beneden welke een component als niet kwantificeerbaar ('<') wordt gerapporteerd, hoogstens een vijfde van de toetsingswaarde of normwaarde voor de gemeten

monsters bedraagt, tenzij niet haalbaar volgens de huidige stand der techniek². Dit geldt zowel in geval de bepalingsgrens als rapportagegrens fungeert, als in geval van het systematisch gebruik van een rapportagegrens die hoger ligt dan de bepalingsgrens.

Wanneer het snijpunt van de kalibratielijns met de Y-as niet significant verschillend is van nul kan het werkgebied uitgebreid worden tot onder het concentratieniveau van de laagste kalibratiestandaard en tot de bepalingsgrens. In het andere geval wordt aanbevolen de laagste kalibratiestandaard als ondergrens van het werkgebied te beschouwen.

In bepaalde gevallen kan het aangewezen zijn om ook waarden tussen de aantoonbaarheidsgrens en de bepalingsgrens te rapporteren, omdat er wel degelijk informatie in zulke waarden kan zitten zodra over een aantal uitslagen wordt uitgemiddeld. Dergelijke werkwijze dient duidelijk te blijken uit het analyseverslag, bijvoorbeeld door de vermelding van de meetwaarden samen met de bepalingsgrens. Met betrekking tot de in eerste alinea beschreven vuistregel is het onverminderd de bepalingsgrens die aan het criterium moet getoetst worden.

In de meeste gevallen is het werkgebied tot boven het lineair gebied uit te breiden door verdunning van het monster of door minder monster in bewerking te nemen. Beperkende factoren voor de bovengrens zijn mogelijk, al naargelang de analysemethode, het optreden van geheugeneffecten, de capaciteit van bepaalde voorbereidingsstappen, ...

5 REFERENTIES

- Anal. Chim. Acta (1997), Hartmann *et al.*, nr 338, p. 19-40.
- AOAC Peer Verified Methods Program – Manual on Policies and Procedures, AOAC International, Arlington VA 22201-3301, USA.
- Accreditatieprogramma voor keuring van partijen grond, bouwstoffen en korrelvormige afvalstoffen - Onderdeel: Samenstelling Grond, versie 9.2a, oktober 2011.
- EPA, 'Definition and procedure for the determination of the method detection limit', revision 1.11, juli 2011.
- Eurachem (2014), *The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics: Second edition*.
- Eurachem/CITAC (2012), *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd Edition*.
- IUPAC (1995), Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods, Including Detection and Quantification Capabilities, IUPAC Recommendations 1995, Pure and Appl. Chem., 1995, 67, 1699 – 1723.
- ISO 3534-1 (2006) Statistics -- Vocabulary and symbols -- Part 1: General statistical terms and terms used in probability.
- ISO 5725-1 to -6 (1994), 'Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results'.
- ISO 8466-1 (1990), 'Water quality – Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics: Part 1 – Statistical evaluation of the linear calibration function', 1st Edition 1990 (E).
- ISO 9169 (2006) Air quality -- Definition and determination of performance characteristics of an automatic measuring system.

² In voorkomend geval wordt dit in de betreffende WAC-procedure en/of in een rapport van LNE of het referentielaboratorium duidelijk aangegeven.

- ISO GUM (2008) Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement
- NEN 7777 (2011), 'Milieu en voedingsmiddelen - Prestatiekenmerken van meetmethoden'.
- Pharmaceutisch Weekblad (1992), 'Richtlijnen voor analytische validatie', van de Vaart, nr. 46, p. 1229-1235.
- RIVM (1994), 'Prestatiekenmerken voor meetmethoden. Termen, definities en testprocedures ten behoeve van het Accreditatieprogramma Normalisatie en Validatie van Milieumeetmethoden', van de Wiel et al., Rapportnr. 219101004.

BIJLAGE A RICHTLIJNEN MET BETREKKING TOT ADDITIE

A.1 ALGEMENE RICHTLIJNEN VOOR ADDITIE

De additie van de component gebeurt proportioneel. Er wordt optimaal tussen 50% en 200% van de in het oorspronkelijk monster aanwezige hoeveelheid toegevoegd.

Het concentratieverschil dient voldoende groot te zijn in verhouding tot de beoogde meetonzekerheid, zonder evenwel de gelijkenis met praktijkmonsters in het gedrang te brengen.

De additie dient zodanig te gebeuren dat er minimale verdunning van het monster (behoud van matrix) optreedt. De verdunning bedraagt bij voorkeur niet meer dan 1% (m/m, v/v of v/m).

De additie dient zodanig uitgevoerd te worden dat de meetonzekerheid op het monster en het geaddeerd monster vergelijkbaar blijven (met behulp van voldoende betrouwbare standaardoplossing, ...).

A.2 SPECIFIEKE RICHTLIJNEN VOOR ADDEREN VAN VERSCHILLENDE MATRICES VOOR ORGANISCHE PARAMETERS

A.2.1 Adderen aan vloeistoffen

Waterige oplossingen

Indien de componenten voldoende goed oplossen in water (bijv. fenolen, polaire pesticiden, ...) wordt in het monster een klein volume ($< 0,1\%$ v/v) met een gekende hoeveelheid van de te bepalen stoffen gebracht. Deze stoffen dienen opgelost in een met water mengbaar oplosmiddel (methanol, 2-propanol, aceton, ...). Homogeniseer het monster.

Indien het componenten betreft die niet goed in water oplossen, brengt men in het geval van een vloeistof/vloeistof extractie eerst het monster over naar een scheitrechter en voert men nadien de additie ($< 0,1\%$ v/v) uit. Wederom zijn de componenten in een met water mengbaar oplosmiddel opgenomen. Spoel de monsterrecipiënten na met het voor de extractie te gebruiken oplosmiddel.

Een andere mogelijkheid is het toevoegen van een additief waarmee de apolaire componenten in de matrix worden gehouden (bijvoorbeeld: 2-propanol, detergenten, ...). In dit geval kan men werken zoals voor polaire verbindingen aangegeven.

BIJLAGE B MINIMALE EISEN MET BETREKKING TOT BEPALINGSGRENZEN

De erkende laboratoria en de VITO hebben in het kader van de ISO 17025 prestatiekenmerken afgeleid voor de parameters die onder de erkenning vallen. Door de VITO werden deze verzameld en verwerkt. Er is bij de verwerking vanuit gegaan dat deze data eveneens de monstervoorbehandeling omvatten. Bij het afleiden van de prestatie-eisen werd geëvalueerd wat in het kader van de wetgeving vereist is en wat analytisch haalbaar is. De resultaten werden besproken in de werkgroepen anorganische en organische parameters.

Indien bij de analyse de minimale bepalingsgrens niet kan gehaald worden, moeten aanpassingen aan de analysegang ervoor zorgen dat de minimale bepalingsgrens toch bereikt wordt. Deze aanpassingen worden op het analyserapport vermeld. Als de minimale bepalingsgrens ondanks de aanpassingen niet kan gehaald worden, wordt de verhoogde bepalingsgrens gerapporteerd samen met de doorgevoerde aanpassingen.

Opm.: De in de onderstaande tabellen opgenomen bepalingsgrenzen zijn deze die met de in dit compendium opgenomen methoden haalbaar zijn. Voor een aantal parameters (o.a. van de Kaderrichtlijn Water) zijn de WAC-methoden niet toereikend om de gewenste bepalingsgrens te halen. In dat geval dienen meer performante, bij voorkeur genormeerde methoden aangewend te worden.

B.1 ANORGANISCHE PARAMETERS

Toelichting legende:

- AW: afvalwater
- OW: oppervlaktewater
- GW: grondwater
- DW: drinkwater
- MKN: milieukwaliteitsnorm
- NM: normwaarde
- LOD: limit of determination (aantoonbaarheidsgrens)
- LOQ: limit of quantification (bepalingsgrens)

Tabel 1: Afvalwater (AW) – anorganische parameters

<i>Parameter (AW)</i>	<i>Eenheid</i>	<i>Rapportagegrens Vlare II Bijlage 4.2.5.2 (vanaf 5/9/2016)</i>
Organoleptische parameters		
kleur	ΔE^*_{ab}	
Elementen		
aluminium	$\mu\text{g/l}$	100
antimoon	$\mu\text{g/l}$	30
arseen	$\mu\text{g/l}$	5
barium	$\mu\text{g/l}$	21
beryllium	$\mu\text{g/l}$	1

<i>Parameter (AW)</i>	<i>Eenheid</i>	<i>Rapportagegrens Vlare II Bijlage 4.2.5.2 (vanaf 5/9/2016)</i>
boor	µg/l	210
cadmium	µg/l	0.8
cerium	µg/l	100
chromium	µg/l	15
fosfor	µg/l	300
ijzer	µg/l	100
kobalt	µg/l	0.6
koper	µg/l	15
kwik	µg/l	0.15
lood	µg/l	15
mangaan	µg/l	20
molybdeen	µg/l	105
nikkel	µg/l	9
seleen	µg/l	5
tellurium	µg/l	30
thallium	µg/l	1
tin	µg/l	12
titanium	µg/l	30
uranium	µg/l	0.5
vanadium	µg/l	5
zilver	µg/l	1
zink	µg/l	60
Anionen		
chloride	mg/l	25
sulfaat	mg/l	25
nitraat	mg/l (mg N/l)	0.5 (0.1)
nitriet	mg/l (mg N/l)	0.1 (0.03)
totaal orthofosfaat	mg/l (mg P/l)	0.15 (0.05)
fluoride	0,2 mg/l	0.2
vrije cyanide	0,01 mg/l	0.01
opgelost sulfide	0,2 mg/l	0.2
zuur milieu oplosbare sulfide	0,2 mg/l	0.2
chromium VI	0,01 mg/l	0.01
vrije chloor	0,1 mg/l	0.1
totaal chloor	mg/l	0.1
Groepsparameters		
bezinkbare stoffen	ml/l	0.1
zwevende stoffen	mg/l	2

BZV	mg O2/l	3

<i>Parameter (AW)</i>	<i>Eenheid</i>	<i>Rapportagegrens Vlarem II Bijlage 4.2.5.2 (vanaf 5/9/2016)</i>
CZV	mg O ₂ /l	7
Kjeldahl stikstof	mg/l	2
totaal stikstof	mg/l	2
TON	mg N/l	0.2
totaal cyanide	mg/l	0.01
TOC/DOC/NPOC/NPDOC	mg/l	10
Kationen		
ammonium	mg/l	0.25

Tabel 2: Oppervlaktewater (OW) – anorganische parameters

<i>Parameter (OW)</i>	<i>Eenheid</i>	<i>Vlarem II Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)</i>	<i>30% NW cfr 2009/90/EC</i>	<i>LOQ_{max}/ Rapportagegrens</i>
Elementen (totaal)*				
antimoon	µg/l	100	30	30
arseen	µg/l	5	1.5	2.5
barium	µg/l	70	21	21
beryllium	µg/l	0.1	0.03	0.5
boor	µg/l	700	210	210
cadmium	µg/l	0.8	0.24	0.4
chrom	µg/l	50	15	15
kobalt	µg/l	0.6	0.18	0.3
koper	µg/l	50	15	15
kwik	µg/l	0.3	0.09	0.15
lood	µg/l	50	15	15
molybdeen	µg/l	350	105	105

nikkel	µg/l	30	9	9
seleen	µg/l	3	0.9	3
tellurium	µg/l	100	30	30
thallium	µg/l	0.2	0.06	0.5
tin	µg/l	40	12	12
titanium	µg/l	100	30	30
uranium	µg/l	1	0.3	0.3
vanadium	µg/l	5	1.5	2.5
zilver	µg/l	0.4	0.12	0.4
zink	µg/l	200	60	60
Elementen (opgelost)*				

<i>Parameter (OW)</i>	<i>Eenheid</i>	<i>Vlarem II Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)</i>	<i>30% NW cfr 2009/90/EC</i>	<i>LOQ_{max}/ Rapportagegrens</i>
antimoon	µg/l	100	30	10
arseen	µg/l	3	0,9	0,9
barium	µg/l	60	18	10
beryllium	µg/l	0,08	0,024	0,1
boor	µg/l	700	210	100
cadmium	µg/l	0,08	0,024	0,1
chroom	µg/l	5	1,5	1,5
kobalt	µg/l	0,5	0,15	0,15
koper	µg/l	7	2,1	3,5
kwik	µg/l	0,07	0,021	0,07
lood	µg/l	1,2	0,36	1,2
molybdeen	µg/l	340	102	10
nikkel	µg/l	4	1,2	1,2
seleen	µg/l	2	0,6	1
tellurium	µg/l	100	30	10
thallium	µg/l	0,2	0,06	0,1
tin	µg/l	3	0,9	0,9
titanium	µg/l	20	6	6
uranium	µg/l	1	0,3	0,3
vanadium	µg/l	4	1,2	1,2

				2
zilver	µg/l	0,08	0,024	0
				,
				1
zink	µg/l	20	6	6
Thermische omstandigheden				
temperatuur	°C	25		
impact thermische lozing	°C			
Zuurstofhuishouding				
opgeloste zuurstof (concentratie)	mg O ₂ /l	6	1.8	0
				.
				3
opgeloste zuurstof (verzadiging)	%	120	36	
biochemisch zuurstofverbruik (BZV)	mg O ₂ /l	6	1.8	2
chemisch zuurstofverbruik (CZV)	mg O ₂ /l	30	9	7
Zoutgehalte				
elektrische geleidbaarheid	µS/cm	100	30	
chloride	mg/l	20	6	6
sulfaat	mg SO ₄ /l	15	4.5	4
				.
				5
Verzuringstoestand				
zuurtegraad (pH)	Sörensen	4.5	1.35	
	n			
Nutriënten				

<i>Parameter (OW)</i>	<i>Eenheid</i>	<i>Vlarem II Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)</i>	<i>30% NW cfr 2009/90/EC</i>	<i>LOQ_{max}/ Rapportagegrens</i>
ammoniak	µg/l	30	9	
nitriet	µg N/l	200	60	60
totaal cyanide	µg/l	50	15	15
fluoride	µg/l	900	270	270
Kjeldahl-stikstof	mg N/l	6	1.8	1.8
nitraat	mg N/l	5.65	1.695	1.7
totaal stikstof	mg N/l	1	0.3	0.5
totaal fosfor	mg P/l	0.14	0.042	0.07
orthofosfaat	mg P/l	0.07	0.021	0.05
nitraat+nitriet+ammonium	mg N/l	0.49	0.147	
Diversen				
zwevende stoffen	mg/l	50	15	15

*LOQ_{max} waarden voor de elementen (totaal en opgelost) moeten worden afgeleid zoals beschreven in WAC/III/B/010, WAC/III/B/011 en/of WAC/III/B/014.

Tabel 3: Grondwater (GW) – anorganische parameters

<i>Parameter</i>	<i>Eenheid</i>	<i>Vlaemse Bijlage 2.4.1 MKN</i>	<i>Vlaemse Bijlage 2.4.1 Min. AGW</i>	<i>Vlaemse Bijlage 2.4.1 Min. DW</i>	<i>30% NW* (MKN/AGW /D W) cfr 2009/90/EC</i>	<i>LOQ max/ Rapportagegrens</i>
Fysisch-chemische parameters						
elektrische geleidbaarheid (bij 20°C)	µs/cm	1600	<u>480</u>	1000	150	150
chloride	mg/l	250	<u>35</u>	140	10	10
sulfaat	mg/l SO ₄	250	<u>51</u>	150	15	15
calcium	mg/l	270	<u>51</u>		15	15
magnesium	mg/l	50	<u>8.3</u>		2.5	2.5
natrium	mg/l	150	<u>18</u>		6	6
kalium	mg/l	12	<u>4.1</u>	8	1.2	1.2
aluminium	mg/l	0.2	<u>0.06</u>		0.02	0.02
Parameters voor ongewenste stoffen						
nitraat	mg/l NO ₃	<u>50</u>			15	15
nitriet	mg/l NO ₂	0.1	0.07	<u>0.07</u>	0.021	0.035
ammonium	mg/l NH ₄ ⁺	0.5	0.47	<u>0.35</u>	0.105	0.175
boor	µg/l	<u>1000</u>	39		300	300
ijzer	mg/l	<u>20</u>	1.1		6	6
mangaan	mg/l	<u>1</u>	0.07		0.3	0.3
koper	µg/l	<u>100</u>	5		30	30
zink	µg/l	500	17	<u>260</u>	78	78
fosfaat	mg/l PO ₄	1.34	0.31	<u>0.83</u>	0.249	0.25
fluoride	mg/l	1.5	0.2	<u>0.8</u>	0.24	0.24
barium	mg/l	<u>1</u>			0.3	0.3
Parameters voor toxische stoffen						
arseen	µg/l	20	6	<u>10</u>	3	3
cadmium	µg/l	5		<u>2.5</u>	0.75	0.75
cyanide	µg/l	<u>50</u>			15	15
chroom	µg/l	<u>50</u>	12		15	15
kwik	µg/l	<u>1</u>			0.3	0.3
nikkel	µg/l	40	6	<u>20</u>	6	6
lood	µg/l	20		<u>10</u>	3	3
antimoon	µg/l	<u>10</u>			3	3
seleen	µg/l	<u>10</u>			3	3
kobalt	µg/l	-	-	-		0.3**

NW: normwaarde, MKN: milieukwaliteitsnorm, AGW: achtergrondwaarde, DW: drempelwaarde (VLAREM II, versie 2016)

*Onderlijnde normwaarden (MKN, AGW, DW) zijn weerhouden voor het berekenen van de 30% normwaarde.

**Richtwaarde gezien geen normwaarde gedefinieerd is in VLAREM II

Tabel 4: Drinkwater (DW) – anorganische parameters

<i>Parameter</i>	<i>Eenheid</i>	<i>DW richtlijn* Normwaarde 2023</i>	<i>Eis LOQ % van normwaarde</i>	<i>LOQ_{max}/ Rapportagegrens 2023</i>
Algemeen				
Geleidingsvermogen voor elektriciteit	µS/cm bij 20°C	~~2400~~ -2500 en geen abnormale verandering	30	~~630~~ -750
Waterstofionen-concentratie	pH-eenheid en	≥ 6.5 en ≤ ~~9.2~~ 9.5		
Elementen	2			
Aluminium	µg/l	200	30	60
Antimoon	µg/l	~~5.0~~ 10	30	~~1.5~~ -3
Arseen	µg/l	10	30	3
Boor	mg/l	~~1.0~~ -1.5	30	~~0.3~~ -0.45
Cadmium	µg/l	5.0	30	1.5
Chroom	µg/l	50/ ~~25~~ ⁽¹⁾	30	15/ ~~7.5~~
Ijzer	µg/l	200	30	60
Koper	mg/l	2.0	30	0.6
Kwik	µg/l	1.0	30	0.3
Lood	µg/l	10/ ~~5~~ ⁽²⁾	30	3/ ~~1.5~~
Mangaan	µg/l	50	30	15
Natrium	mg/l	200	30	60
Nikkel	µg/l	20	30	6
Seleen	µg/l	~~10~~ -20	30	~~3~~ 6
Uraan	µg/l	30	30	9
Zink	µg/l	5000 ⁽³⁾	30	60
Anionen				
Bromaat	µg/l	10	30	3
Chloride	mg/l	250	30	75
Fluoride	mg/l	1.5	30	0.45
Nitraat	mg/l	50	30	15
Nitriet	mg/l	~~0.10~~ 0.50	30	~~0.03~~ 0.15
Sulfaat	mg/l	250	30	75
Vrije chloorresten	µg/l	250	30	75
Chloriet	mg/l	~~0.70~~ 0.25	30	~~0.07~~ 5
Chloraat	mg/l	~~0.70~~ 0.25	30	~~0.07~~ 5
Perchloraat	µg/l	13	30	4
Groepsparameters				
Oxideerbaarheid	mg/l O2	5.0	30	1.5
Cyanide	µg/l	50	30	15
Organische koolstof totaal (TOC)		Geen abnormale	30	

		verandering		
Kationen				
Ammonium	mg/l	0.5	30	0.15

**Bron: 20 JANUARI 2023. — Besluit van de Vlaamse Regering over de kwaliteit, kwantiteit en levering van water bestemd voor menselijke consumptie (BS 08.03.2023).*

- (1) Uiterlijk op 12 januari 2036 moet aan de parameterwaarde van 25 µg/l worden voldaan. Tot die datum bedraagt de parameterwaarde voor chroom 50 µg/l.
- (2) Uiterlijk op 12 januari 2036 moet aan de parameterwaarde van 5 µg/l worden voldaan. Tot die datum bedraagt de parameterwaarde voor lood 10 µg/l.
- (3) De waterleverancier moet ernaar streven om de waarde van 200 µg/l bij de uitstroom van de waterbehandelingsinstallatie niet te overschrijden.

B.2 ORGANISCHE PARAMETERS

Toelichting legende:

- OW: oppervlaktewater
- GW: grondwater
- DW: drinkwater
- MKN: milieukwaliteitsnorm
- NM: normwaarde
- LOQ: limit of quantification (bepalingsgrens)

Opmerking: Voor afvalwater wordt verwezen naar VLAREM II Bijlage 4.2.5.2

Tabel 5: Oppervlaktewater (OW) – organische parameters

<i>Parameter</i>	<i>Eenheid</i>	OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)	30% NW cfr 2009/90/EC	LOQ max
Acrylamide	µg/l			-
Minerale olie (GC)	µg/l			100
Geëmulgeerde of opgeloste koolwaterstoffen (na extractie met ether) minerale oliën	µg/l			
Petroleumether extraheerbare stoffen	mg/l			20
Perchloorethyleen extraheerbare apolaire stoffen	mg/l			0.4
Oliën en Vetten (IR)	mg/l			0.4
Oliën en vetten (gravim)	mg/l			20
EOX	µg Cl/l			5
AOX	µg Cl/l	40	12	20
POX	µg Cl/l			10
VOCI. MAK				
vinylchloride	µg/l	100	30	1
chloorethaan	µg/l			1
1.1-dichlooretheen	µg/l	50	15	1
dichloormethaan	µg/l	20	6	2.5
1.1-dichloorethaan	µg/l	100	30	1
2.2-dichloorpropaan	µg/l			1
1.2-dichlooretheen. cis	µg/l		1.5	1
1.2-dichlooretheen. trans	µg/l		1.5	1
1.2-dichloorethenen (som)	µg/l	10	3	1

broomchloormethaan	µg/l			1

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)	30% NW cfr 2009/90/EC	LOQ max
chloroform (trichloormethaan)	µg/l	2.5	0.75	1
1.1.1-trichloorethaan	µg/l	20	6	1
1.1-dichloorpropeen	µg/l			1
koolstoftetrachloride (tetrachloormethaan)	µg/l	12	3.6	1
1.2-dichloorethaan (EDC)	µg/l	10	3	1
trichloorethyleen	µg/l	10	3	1
1.2-dichloorpropaan	µg/l	400	120	1
dibroommethaan	µg/l			1
broomdichloormethaan	µg/l			1
1.3-dichloorpropeen-cis	µg/l	2 (som)	0.3	1
1.3-dichloorpropeen-trans	µg/l		0.3	1
1.1.2-trichloorethaan	µg/l	20	6	1
tetrachloorethyleen	µg/l	10	3	1
1.3-dichloorpropaan	µg/l			1
dibroomchloormethaan	µg/l			1
1.2-dibroommethaan	µg/l	0.003	0.001	1
chloorbenzeen	µg/l	6	1.8	1
1.1.1.2-tetrachloorethaan	µg/l			1
bromoform (tribroommethaan)	µg/l			1
1.1.2.2-tetrachloorethaan	µg/l	100	30	1
broombenzeen	µg/l			1
1.2.3-trichloorpropaan	µg/l			1
2-chloortolueen	µg/l	3 (som monoCltoluene n)	0.3	1
4-chloortolueen	µg/l		0.3	1
1.3-dichloorbenzeen	µg/l	20 (som)	3	1
1.4-dichloorbenzeen	µg/l		3	1
1.2-dichloorbenzeen	µg/l		3	1
1.2-dibroom-3-chloorpropaan	µg/l			1
1.2.4-trichloorbenzeen	µg/l		0.04	0.1
hexachloorbutadien	µg/l	0.6	0.2	0.1
1.2.3-trichloorbenzeen	µg/l		0.04	0.1
1.3.5-trichloorbenzeen	µg/l		0.04	0.1
trichloorbenzenen (som)	µg/l	0.4	0.12	0.3
tetrachlooretheen + trichlooretheen	µg/l			2
trihalomethanen-totaal	µg/l			4
MAK				
benzeen	µg/l	10	3	1
tolueen	µg/l	90	27	1
ethylbenzeen	µg/l	5	1.5	1
m- + p-xyleen	µg/l		0.8	2
o-xyleen	µg/l		0.4	1

Parameter	Eenh eid	OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)	30% NW cfr 2009/90/EC	LOQ max
xylenen (som)	µg/l	4	1.2	3
styreen	µg/l			1
isopropylbenzeen	µg/l	1	0.3	1
n-propylbenzeen	µg/l			1
1.3.5-trimethylbenzeen	µg/l			1
tert-butylbenzeen	µg/l			1
1.2.4-trimethylbenzeen	µg/l			1
1.2.3-trimethylbenzeen	µg/l			1
sec butylbenzeen	µg/l			1
p-isopropyltolueen	µg/l			1
n-butylbenzeen	µg/l			1
naftaleen	µg/l	2	0.6	1
methyl-t-butyl-ether (MTBE)	µg/l			4
n-hexaan	µg/l			4
n-heptaan	µg/l			10
n-octaan	µg/l			10
CIKWS (matig vluchtige)				
hexachloorethaan	µg/l	3	0.9	0.5
1.3.5-trichloorbenzeen	µg/l		0.04	0.1
1.2.4-trichloorbenzeen	µg/l		0.04	0.1
1.2.3-trichloorbenzeen	µg/l		0.04	0.1
trichloorbenzenen (som)	µg/l	0.4	0.12	0.3
hexachloorbutadieen (HCBD)	µg/l	0.6	0.2	0.1
(1.2.3.5+1.2.4.5)-tetrachloorbenzeen	µg/l	9	2.7	0.2
1.2.3.4-tetrachloorbenzeen	µg/l			0.1
2-chloornaftaleen	µg/l	1 (som)	0.15	0.1
1-chloornaftaleen	µg/l		0.15	0.1
pentachloorbenzeen	µg/l	0.007	0.0021	0.1
hexachloorbenzeen	µg/l	0.05	0.01	0.1
Fenolen				
fenol	µg/l			0.5
2-methylfenol (o-cresol)	µg/l			0.1
3-methylfenol (m-cresol)	µg/l			0.1
4-methylfenol (p-cresol)	µg/l			0.1
2.3-dimethylfenol	µg/l			0.1
2.4-dimethylfenol	µg/l			0.1
2.5-dimethylfenol	µg/l			0.1
2.6-dimethylfenol	µg/l			0.1
3.4-dimethylfenol	µg/l			0.1

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)</i>	<i>30% NW cfr 2009/90/EC</i>	<i>LOQ max</i>
3.5-dimethylfenol	µg/l			0.1
2-ethylfenol	µg/l			0.1
3-ethylfenol	µg/l			0.1
4-ethylfenol	µg/l			0.1
2-isopropylfenol	µg/l			0.1
2.3.5-trimethylfenol	µg/l			0.1
t-octylfenol	µg/l	0.1	0.03	0.03
nonylfenol	µg/l	0.3	0.09	0.3
bisfenol A	µg/l			0.1
4-chloor-3-methylfenol	µg/l	9	2.7	0.1
4-chloor-3.5-dimetylfenol (dettol)	µg/l			0.1
2-chloorfenol	µg/l	20 (som)	2	0.1
3-chloorfenol	µg/l		2	0.1
4-chloorfenol	µg/l		2	0.1
2.3-dichloorfenol	µg/l			0.1
2.4-dichloorfenol	µg/l	2	0.6	0.1
2.5-dichloorfenol	µg/l			0.1
2.6-dichloorfenol	µg/l			0.1
3.4-dichloorfenol	µg/l			0.1
3.5-dichloorfenol	µg/l			0.1
2.3.4-trichloorfenol	µg/l	6 (som)	0.3	0.1
2.3.5-trichloorfenol	µg/l		0.3	0.1
2.3.6-trichloorfenol	µg/l		0.3	0.1
2.4.5-trichloorfenol	µg/l		0.3	0.1
2.4.6-trichloorfenol	µg/l		0.3	0.1
3.4.5-trichloorfenol	µg/l		0.3	0.1
2.3.4.5-tetrachloorfenol	µg/l			0.1
2.3.4.6-tetrachloorfenol	µg/l			0.1
2.3.5.6-tetrachloorfenol	µg/l			0.1
pentachloorfenol	µg/l	0.4	0.12	0.1
Organofluorverbindingen – PFAS				
perfluor-n-butaanzuur (PFBA)	µg/l			0.01
perfluor-n-pentaanzuur (PFPeA)	µg/l			0.01
perfluor-n-hexaanzuur (PFHxA)	µg/l			0.01
perfluor-n-heptaanzuur (PFHpA)	µg/l			0.01
perfluor-n-octaanzuur (PFOA)	µg/l			0.01
perfluor-n-nonaanzuur (PFNA)	µg/l			0.01
perfluor-n-decaanzuur (PFDA)	µg/l			0.01
perfluor-n-undecaanzuur (PFUnDA)	µg/l			0.01
perfluor-n-dodecaanzuur (PFDoDA)	µg/l			0.01
perfluor-n-tridecaanzuur (PFTTrDA)	µg/l			0.05

Parameter	Eenh eid	OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)	30% NW cfr 2009/90/EC	LOQ max
perfluor-n-tetradecaanzuur (PFTeDA)	µg/l			0.01
perfluor-n-hexadecaanzuur (PFHxDA)	µg/l			0.01
perfluor-n-butaansulfonzuur (PFBS)	µg/l			0.01
perfluor-n-pentaansulfonzuur (PFPeS)	µg/l			0.01
perfluor-n-hexaansulfonzuur (PFHxS)	µg/l			0.01
perfluor-n-heptaansulfonzuur (PFHpS)	µg/l			0.01
perfluor-n-octaansulfonzuur (PFOS)	µg/l	0.00065	0.00018	0.01
perfluor-n-nonaansulfonzuur (PFNS)	µg/l			0.01
perfluor-n-decaansulfonzuur (PFDS)	µg/l			0.01
4:2 fluortelomeersulfonzuur (4:2 FTS)	µg/l			0.01
8:2 fluortelomeersulfonzuur (8:2 FTS)	µg/l			0.01
perfluor-n-octaansulfonamide (PFOSA)	µg/l			0.01
N- methylperfluor-octaansulfonamide (MePFOSA)	µg/l			0.01
N-ethylperfluor-octaansulfonamide (EtPFOSA)	µg/l			0.01
N-methylperfluor-octaansulfonamido- azijnzuur (MePFOSAA)	µg/l			0.01
N-ethylperfluor-octaansulfonamido- azijnzuur (EtPFOSAA)	µg/l			0.01
8:2 fluortelomeerfosfaat diester (8:2 diPAP)	µg/l			0.01
6:2/8:2 fluortelomeerfosfaat diester (6:2 8:2 diPAP)	µg/l			0.05
perfluor-2- propoxypropaanzuur (HFPO-DA)	µg/l			0.01
4,8-dioxa-3H-perfluornonaanzuur (DONA)	µg/l			0.01
perfluor-4- ethylcyclohexaansulfonzuur (PFECHS)	µg/l			0.01
perfluor-n-octadecaanzuur (PFODA)	µg/l			0.05
perfluor-n-dodecaansulfonzuur (PFDoDS)	µg/l			0.05
perfluor-n-undecaansulfonzuur (PFUnDS)	µg/l			0.05
perfluor-n-tridecaansulfonzuur (PFTrDS)	µg/l			0.05
6:2 fluortelomeerfosfaat diester (6:2 diPAP)	µg/l			0.05
6:2 fluortelomeersulfonzuur (6:2 FTS)	µg/l			0.01
10:2 fluortelomeersulfonzuur (10:2 FTS)	µg/l			0.05
perfluor-n-butaansulfonamide (PFBSA)	µg/l			0.01
N-methylperfluor-n- butaansulfonamide (MePFBSA)	µg/l			0.01
N-methylperfluor-n- butaansulfonylamide acetaat (MePFBSAA)	µg/l			0.01
perfluor-n-hexaansulfonamide (PFHxSA)	µg/l			0.01

perfluorooctaanzuur (som van lineaire en vertakte) (PFOAtotaal)	µg/l			0.05
perfluorooctaansulfonzuur (som van lineaire en vertakte) (PFOSStotaal)	µg/l			0.05
perfluorooctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte) (PFOSAtotaal)	µg/l			0.05

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)	30% NW cfr 2009/90/EC	LOQ max
N-methylperfluorooctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte) (MePFOSAtotaal)	µg/l			0.05
N-ethylperfluorooctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte) (EtPFOSAtotaal)	µg/l			0.05
perfluorhexaansulfonzuur (som van lineaire en vertakte) (PFHxStotaal)	µg/l			0.05
PAKs				
naftaleen	µg/l	2	0.6	1
benzo(a)pyreen	µg/l	0.00017	0.00005	0.03
fenanthreen	µg/l	0.1	0.03	0.03
fluorantheen	µg/l	0.0063	0.002	0.03
benzo(a)anthraceen	µg/l	0.3	0.09	0.03
chryseen	µg/l	1	0.3	0.03
benzo(b)fluorantheen	µg/l	0.03 (som)	0.005	0.03
benzo(k)fluorantheen	µg/l		0.005	0.03
benzo(g,h,i)peryleen	µg/l	0.002 (som)	0.0003	0.03
indeno(1.2.3-c,d)pyreen	µg/l		0.0003	0.03
antraceen	µg/l	0.1	0.03	0.03
fluoreen	µg/l	2	0.6	0.03
dibenzo(a,h)antraceen	µg/l	0.5	0.15	0.03
acenaftteen	µg/l	0.06	0.018	0.03
acenaftyleen	µg/l	4	1.2	0.03
pyreen	µg/l	0.04	0.012	0.03
PCB				
PCB 28	µg/l	0.002 (som)	0.0001	0.02
PCB 52	µg/l		0.0001	0.02
PCB 101	µg/l		0.0001	0.02
PCB 118	µg/l		0.0001	0.02
PCB 153	µg/l		0.0001	0.02
PCB 138	µg/l		0.0001	0.02
PCB 180	µg/l		0.0001	0.02
OCP				
aldrin	µg/l	0.01 (som)	0.00075	0.05
dieldrin	µg/l		0.00075	0.05
isodrin	µg/l		0.00075	0.05
endrin	µg/l		0.00075	0.05
cis-chlordaan	µg/l	0.002 (som)	0.0003	0.05
trans-chlordaan	µg/l		0.0003	0.05
p,p'-DDT	µg/l	0.01	0.003	0.05
p,p'-DDD	µg/l	0.025 (som)	0.003	0.05

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)	30% NW cfr 2009/90/EC	LOQ max
p,p'-DDE	µg/l		0.003	0.05
o,p'-DDT	µg/l		0.003	0.05
p,p'-DDT	µg/l		0.003	0.05
o,p'-DDD	µg/l			0.05
o,p'-DDE	µg/l			0.05
lindaan (α-isomeer)	µg/l	0.02 (som)	0.0015	0.05
lindaan (β-isomeer)	µg/l		0.0015	0.05
lindaan (γ-isomeer)	µg/l		0.0015	0.05
lindaan (δ-isomeer)	µg/l		0.0015	0.05
heptachloor	µg/l	0.0000002 (som)	0.0000000 2	0.05
α-heptachloorepoxide	µg/l		0.0000000 2	0.05
β-heptachloorepoxide	µg/l		0.0000000 2	0.05
α-endosulfan	µg/l	0.005 (som)	0.00075	0.07
β-endosulfan	µg/l		0.00075	0.07
endosulfansulfaat	µg/l			0.07
endosulfan (α+β+sulfaat)	µg/l			0.2
2,3,5,6-tetrachloornitrobenzeen (tecnazeen)	µg/l			0.05
pentachloornitrobenzeen (quintozeen)	µg/l			0.05
methoxychlor	µg/l			0.05
dicofol (p,p'-)	µg/l	0.0013	0.0004	0.03
OPP				
azinfos-methyl	µg/l	0.002	0.0006	0.025
azinfos-ethyl	µg/l	0.01	0.003	0.025
bromophos (bromophos-methyl)	µg/l			0.025
bromophos-ethyl	µg/l			0.025
chlorfenvinphos	µg/l	0.1	0.03	0.025
chlorpyrifos	µg/l	0.03	0.009	0.025
chlorpyrifos-methyl	µg/l			0.025
diazinon	µg/l			0.025
dichloorvos	µg/l	0.0006	0.00018	0.025
dimethoat	µg/l	0.02	0.006	0.025
ethoprofos	µg/l			0.025
fenitrothion	µg/l	0.0009	0.00027	0.025
fenthion	µg/l	0.0002	0.00006	0.025
fonofos	µg/l			0.025
malathion	µg/l	0.0008	0.00024	0.025
methidathion	µg/l			0.025
mevinfos	µg/l	0.002	0.0006	0.025
parathion-ethyl	µg/l	0.0002	0.00006	0.025

parathion-methyl	µg/l	0.01	0.003	0.025

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)</i>	<i>30% NW cfr 2009/90/EC</i>	<i>LOQ max</i>
pirimiphos-methyl	µg/l			0.025
terbufos	µg/l			0.025
disulfoton	µg/l	0.01	0.003	0.025
ONP				
Triazineherbiciden				
atrazine	µg/l	0.6	0.18	0.025
cyanazine	µg/l			0.025
desethylatrazine	µg/l			0.025
hexazinone	µg/l			0.025
prometryn	µg/l			0.025
propazine	µg/l			0.025
sebutylazine	µg/l			0.025
simazine	µg/l	1	0.3	0.025
terbutryn	µg/l	0.065	0.02	0.025
terbutylazine	µg/l			0.025
uronen (fenylurea) en anilides				
alachlor	µg/l	0.3	0.09	0.025
chloortoluron	µg/l			0.025
diuron	µg/l	0.2	0.06	0.025
isoproturon	µg/l	0.3	0.09	0.025
linuron	µg/l	0.3	0.09	0.025
metabenzthiazuron	µg/l			0.025
metabromuron	µg/l			0.025
metazachlor	µg/l			0.025
metolachlor	µg/l			0.025
metoxuron	µg/l			0.025
monolinuron	µg/l	0.3	0.09	0.025
propachlor	µg/l			0.025
carbendazim	µg/l			0.025
carbetamide	µg/l			0.025
Andere (stikstof)pesticiden (W.7.17)				
desisopropylatrazine	µg/l			0.025
chloridazon (pyrazon)	µg/l	10	3	0.025
ethofumesate	µg/l			0.025
metamitron	µg/l			0.025
desethylterbutylazine	µg/l			0.025
BAM (2.6-dichlorobenzamide)	µg/l			0.025
bromacil	µg/l			0.025
propanil	µg/l	0.2	0.06	0.1

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)	30% NW cfr 2009/90/EC	LOQ max
trifluralin	µg/l	0.03	0.009	0.1
demeton	µg/l	0.05	0.015	0.1
triazophos	µg/l			0.1
coumafos	µg/l	0.001	0.0003	0.025
chlorpropham	µg/l			0.025
glyfosaat	µg/l			0.05
AMPA	µg/l			0.05
aclonifen	µg/l	0.12	0.036	0.005
bifenox	µg/l	0.012	0.0036	0.004
cybutryne	µg/l	0.0025	0.00075	0.002
cypermethrin	µg/l	0.00008	0.000024	0.006
quinoxifen	µg/l	0.15	0.045	0.002
Zure herbiciden				
2.4.5-trichloorfenox-y-azijnzuur (2.4.5-T)	µg/l	2	0.6	0.05
2.4dichloorfenox-yazijnzuur (2.4-D)	µg/l	20	6	0.05
bentazon	µg/l	50	15	0.05
dichlorprop	µg/l	20	6	0.05
fenoprop (2.4-P)	µg/l			0.05
fluroxypyr	µg/l			0.05
MCPA	µg/l	0.7	0.21	0.05
MCPB	µg/l			0.05
mecoprop (MCP)	µg/l	10	3	0.05
2.4-DB	µg/l			0.05
dicamba	µg/l			0.3
Niet-ionogene oppervlakteactieve stoffen		1000	300	300
alcoholethoxylaten (AE)	µg/l			10
alkylfenoethoxylaten (APE)	µg/l			10
Kationische oppervlakteactieve stoffen (indiv.)	µg/l	1000	300	10 indiv
Gebromeerde brandvertragers				
BDE 28	µg/l	0.14 (som)	0.007	0.025
BDE 47	µg/l		0.007	0.025
BDE 99	µg/l		0.007	0.025
BDE 100	µg/l		0.007	0.025
BDE 153	µg/l		0.007	0.025
BDE 154	µg/l		0.007	0.025
BDE 209	µg/l			0.04
HBCD	µg/l	0.0016	0.0005	0.02

Parameter	Eenh eid	OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)	30% NW cfr 2009/90/EC	LOQ max
Organotinverbindingen				
dibutyltindichloride dibutyltinoxide dibutyltinzouten	µg Sn/l	0.08		0.03
tetrabutyltin	µg/l	0.012		0.004
Tributyltin	µg/l	0.0002		0.000 06
trifenylnitriet trifenylnitrochloride trifenylnitrohydroxide	µg/l	0.0003		0.000 1
Aromatische amines				
aniline	µg/l			0.1
2-chloroaniline 3-chloroaniline 4-chloroaniline	µg/l	1 (som)	0.3 (som)	0.1 indiv
2,3-dichloroaniline 2,4-dichloroaniline 2,5-dichloroaniline 2,6-dichloroaniline 3,5-dichloroaniline	µg/l	0.2 (som)	0.06 (som)	0.01 indiv
3,4-dichloroaniline	µg/l	20 (som met 1,2-dichloorbenzeen)	6	0.1
2-chloro-4-methylaniline 3-chloro-2-methylaniline 4-chloro-2-methylaniline 2-chloro-5-methylaniline 2-chloro-6-methylaniline 4-chloro-3-methylaniline	µg/l	8 (som)	2.4 (som)	0.4 indiv
3,3'-dichlorobenzidine 4,4'-diamino-2,2'-dichlorobiphenyl	µg/l	0.5 (som)	0.15 (som)	0.07 indiv

2-amino-4-chlorophenol	µg/l	10	3	3
4-chloor-2-nitroaniline	µg/l	2	0.6	0.6
benzidine	µg/l	0.6	0.18	0.18
4,4'-diaminofenylmethaan	µg/l			0.1
4,4'-methylenebis(2-chloroaniline)	µg/l			0.1
2,4-diaminotolueen	µg/l			0.1
Ftaalzuuresters				
dimethylftalaat (DMP)	µg/l			1
diethylftalaat (DEP)	µg/l			1
di-n-butylftalaat (DBP)	µg/l			1
di-isobutylftalaat (DiBP)	µg/l			1
benzylbutylftalaat (BBP)	µg/l			1
di-n-octylftalaat (DnOP)	µg/l			1
dicyclohexylftalaat (DCHP)	µg/l			1
dipropylftalaat (DPrP)	µg/l			1
di-n-pentylftalaat (DnPP)	µg/l			1

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	OW Bijlage 2.3.1 art 3 (laagste MKN)	30% NW cfr 2009/90/EC	LOQ max
di-isopentylftalaat (DIPP)	µg/l			1
n-pentylisopentylftalaat (PIPP)	µg/l			1
di-n-hexylftalaat (DnHxP)	µg/l			1
di-isohexylftalaat (DIHxP)	µg/l			1
di-n-heptylftalaat (DnHpP)	µg/l			1
di(2-ethylhexyl)ftalaat (DEHP)	µg/l			2
di-n-undecylftalaat (DnUP)	µg/l			1
di-isohexylftalaat (mix van isomeren) (DIHxP-mix)	µg/l			5
di-isoheptylftalaat (mix van isomeren) (DIHpP-mix)	µg/l			5
di-isononylftalaat (mix van isomeren) (DINP-mix)	µg/l			5
di-isodecylftalaat (mix van isomeren) (DIDP-mix)	µg/l			5
di-isoundecylftalaat (mix van isomeren) (DIUP-mix)	µg/l			5

Tabel 6: Grondwater (GW) – organische parameters

<i>Parameter</i>	<i>Eenheid</i>	<i>GW MKN Vlaamse Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vlaamse bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ_{max}</i>	<i>LOQ-eis CMA</i>
Acrylamide	µg/l				-	
Minerale olie (GC)	µg/l		300	90	100	
Geëmulgeerde of opgeloste koolwaterstoffen (na extractie met ether) minerale oliën	µg/l	10		3		
Petroleumether extraheerbare stoffen	mg/l				20	
Perchloorethyleen extraheerbare apolaire stoffen	mg/l				0.4	
Oliën en Vetten (IR)	mg/l				0.4	
Oliën en vetten (gravim)	mg/l				20	
EOX	µg Cl/l				5	
AOX	µg Cl/l				20	
POX	µg Cl/l				10	
VOC						
epichloorhydrine	µg/l				-	
vinylchloride	µg/l		2	0.6	1	1
chloorethaan	µg/l				1	
1.1-dichlooretheen	µg/l				1	
dichloormethaan	µg/l		5	1.5	2.5	2.5
1.1-dichloorethaan	µg/l		5	1.5	1	1
2.2-dichloorpropaan	µg/l				1	
1.2-dichlooretheen. cis	µg/l			0.75	1	1.2
1.2-dichlooretheen. trans	µg/l			0.75	1	1.2
1.2-dichloorethenen (som)	µg/l		5	1.5	1	
broomchloormethaan	µg/l				1	
chloroform (trichloormethaan)	µg/l		5	1.5	1	1
1.1.1-trichloorethaan	µg/l		5	1.5	1	1
1.1-dichloorpropeen	µg/l				1	
koolstoftetrachloride (tetrachloormethaan)	µg/l		1.2	0.36	0.6	0.6
1.2-dichloorethaan (EDC)	µg/l		5	1.5	1	1
trichloorethyleen	µg/l	10 mi	5	1.5	1	1

		V P E R				
1.2-dichloorpropan	µg/l				1	
dibroommethaan	µg/l				1	

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>GW MKN Vlare m Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vlare bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ max</i>	<i>LOQ- eis CM A</i>
broomdichloormethaan	µg/l				1	
1.3-dichloorpropeen-cis	µg/l				1	
1.3-dichloorpropeen-trans	µg/l				1	
1.1.2-trichloorethaan	µg/l		5	1.5	1	1
tetrachloorethyleen	µg/l	10 m iv T RI	5	1.5	1	1
1.3-dichloorpropaan	µg/l				1	
dibroomchloormethaan	µg/l				1	
1.2-dibroomethaan	µg/l				1	
chloorbenzeen	µg/l		5	1.5	1	1
1.1.1.2-tetrachloorethaan	µg/l				1	
bromoform (tribroommethaan)	µg/l				1	
1.1.1.2-tetrachloorethaan	µg/l				1	
broombenzeen	µg/l				1	
1.2.3-trichloorpropaan	µg/l				1	
2-chloortolueen	µg/l				1	
4-chloortolueen	µg/l				1	
1.3-dichloorbenzeen	µg/l		5	1.5	1	1
1.4-dichloorbenzeen	µg/l		5	1.5	1	1
1.2-dichloorbenzeen	µg/l		5	1.5	1	1
1.2-dibroom-3-chloorpropaan	µg/l				1	
1.2.4-trichloorbenzeen	µg/l		5	1.5	0.1	1
hexachloorbutadien	µg/l				0.1	
1.2.3-trichloorbenzeen	µg/l		5	1.5	0.1	1
1.3.5-trichloorbenzeen	µg/l		5	1.5	0.1	1
trichloorbenzenen (som)	µg/l				0.3	
Tetrachloorethee n + trichloorethe en	µg/l				2	
trihalomethanen-totaal	µg/l				4	
MAK						
benzeen	µg/l		2	0.6	1	1
tolueen	µg/l		2 0	6	1	4
ethylbenzeen	µg/l		2 0	6	1	4
m- + p-xyleen	µg/l			4	2	2
o-xyleen	µg/l			2	1	1
xylenen (som)	µg/l		2 0	6	3	
styreen	µg/l		1	3	1	2

			0			
isopropylbenzeen	µg/l				1	
n-propylbenzeen	µg/l				1	
1.3.5-trimethylbenzeen	µg/l		1 5 0	45	1	10
tert-butylbenzeen	µg/l				1	
1.2.4-trimethylbenzeen	µg/l		1 5 0	45	1	10

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>GW MKN Vlare m Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vlare bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ max</i>	<i>LOQ- eis CM A</i>
1.2.3-trimethylbenzeen	µg/l		1 5 0	45	1	10
sec butylbenzeen	µg/l				1	
p-isopropyltolueen	µg/l				1	
n-butylbenzeen	µg/l				1	
naftaleen	µg/l				1	
methyl-t-butyl-ether (MTBE)	µg/l		2 0	6	4	4
n-hexaan	µg/l				4	4
n-heptaan	µg/l				10	10
n-octaan	µg/l				10	10
CIKWS (matig vluchtige)						
hexachloorethaan	µg/l				0.5	
1.3.5-trichloorbenzeen	µg/l		5	1.5	0.1	1
1.2.4-trichloorbenzeen	µg/l		5	1.5	0.1	1
1.2.3-trichloorbenzeen	µg/l		5	1.5	0.1	1
trichloorbenzenen (som)	µg/l				0.3	
hexachloorbutadieen (HCBd)	µg/l				0.1	
(1.2.3.5+1.2.4.5)- tetrachloorbenzeen	µg/l		1 0	3	0.2	2
1.2.3.4-tetrachloorbenzeen	µg/l		5	1.5	0.1	1
2-chloornaftaleen	µg/l				0.1	
1-chloornaftaleen	µg/l				0.1	
pentachloorbenzeen	µg/l		1. 4	0.42	0.1	0.3
hexachloorbenzeen	µg/l		0. 6	0.18	0.1	0.1
Fenolen		fenolget al 0.5 µg/l C6H5 OH				
fenol	µg/l				0.5	
2-methylfenol (o-cresol)	µg/l				0.1	
3-methylfenol (m-cresol)	µg/l				0.1	
4-methylfenol (p-cresol)	µg/l				0.1	
2.3-dimethylfenol (a)	µg/l				0.1	
2.4-dimethylfenol	µg/l				0.1	
2.5-dimethylfenol	µg/l				0.1	

2.6-dimethylfenol	µg/l				0.1	
3.4-dimethylfenol	µg/l				0.1	
3.5-dimethylfenol	µg/l				0.1	
2-ethylfenol	µg/l				0.1	
3-ethylfenol	µg/l				0.1	
4-ethylfenol	µg/l				0.1	

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>GW MKN Vlare m Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vlare bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ max</i>	<i>LOQ- eis CM A</i>
2-isopropylfenol	µg/l				0.1	
2.3.5-trimethylfenol	µg/l				0.1	
t-octylfenol	µg/l				0.03	
nonylfenol	µg/l				0.3	
bisfenol A	µg/l				0.1	
4-chloor-3-methylfenol	µg/l				0.1	
4-chloor-3.5-dimethylfenol (dettol)	µg/l				0.1	
2-chloorfenol	µg/l		1 5	4.5	0.1	1
3-chloorfenol	µg/l				0.1	
4-chloorfenol	µg/l				0.1	
2.3-dichloorfenol	µg/l				0.1	
2.4-dichloorfenol	µg/l		9	2.7	0.1	1
2.5-dichloorfenol	µg/l				0.1	
2.6-dichloorfenol	µg/l				0.1	
3.4-dichloorfenol	µg/l				0.1	
3.5-dichloorfenol	µg/l				0.1	
2.3.4-trichloorfenol	µg/l				0.1	
2.3.5-trichloorfenol	µg/l				0.1	
2.3.6-trichloorfenol	µg/l				0.1	
2.4.5-trichloorfenol	µg/l		3 0 0	90	0.1	1
2.4.6-trichloorfenol	µg/l		2 0 0	60	0.1	1
3.4.5-trichloorfenol	µg/l				0.1	
2.3.4.5-tetrachloorfenol	µg/l				0.1	
2.3.4.6-tetrachloorfenol	µg/l		9 0	27	0.1	1
2.3.5.6-tetrachloorfenol	µg/l				0.1	
pentachloorfenol	µg/l		9	2.7	0.1	1
Organofluorverbindingen - PFAS						
perfluor-n-butaanzuur (PFBA)	µg/l				0.01	
perfluor-n-pentaanzuur (PFPeA)	µg/l				0.01	
perfluor-n-hexaanzuur (PFHxA)	µg/l				0.01	
perfluor-n-heptaanzuur (PFHpA)	µg/l				0.01	
perfluor-n-octaanzuur (PFOA)	µg/l				0.01	
perfluor-n-nonaanzuur (PFNA)	µg/l				0.01	
perfluor-n-decaanzuur (PFDA)	µg/l				0.01	
perfluor-n-undecaanzuur (PFUnDA)	µg/l				0.01	
perfluor-n-dodecaanzuur (PFDoDA)	µg/l				0.01	

perfluor-n-tridecaanzuur (PFTTrDA)	µg/l				0.05	
perfluor-n-tetradecaanzuur (PFTeDA)	µg/l				0.01	
perfluor-n-hexadecaanzuur	µg/l				0.01	

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>GW MKN Vlare m Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vlare bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ max</i>	<i>LOQ- eis CM A</i>
(PFHxDA)						
perfluor-n-butaansulfonzuur (PFBS)	µg/l				0.01	
perfluor-n- pentaansulfonzuur (PFPeS)	µg/l				0.01	
perfluor-n- hexaansulfonzuur (PFHxS)	µg/l				0.01	
perfluor-n- heptaansulfonzuur (PFHpsS)	µg/l				0.01	
perfluor-n-octaansulfonzuur (PFOS)	µg/l				0.01	
perfluor-n-nonaansulfonzuur (PFNS)	µg/l				0.01	
perfluor-n-decaansulfonzuur (PFDS)	µg/l				0.01	
4:2 fluortelomeersulfonzuur (4:2 FTS)	µg/l				0.01	
8:2 fluortelomeersulfonzuur (8:2 FTS)	µg/l				0.01	
perfluor-n- octaansulfonamide (PFOSA)	µg/l				0.01	
N- methylperfluorooctaansulfonamide (MePFOSA)	µg/l				0.01	
N- ethylperfluorooctaansulfonamide (EtPFOSA)	µg/l				0.01	
N- methylperfluorooctaansulfonamido- azijnzuur (MePFOSAA)	µg/l				0.01	
N- ethylperfluorooctaansulfonamido- azijnzuur (EtPFOSAA)	µg/l				0.01	
8:2 fluortelomeerfosfaat diester (8:2 diPAP)	µg/l				0.01	
6:2/8:2 fluortelomerfosfaat diester (6:2 8:2 diPAP)	µg/l				0.05	
perfluor-2- propoxypropaanzuur (HFPO-DA)	µg/l				0.01	
4,8-dioxa-3H- perfluornonaanzuur (DONA)	µg/l				0.01	
perfluor- 4-	µg/l				0.01	

ethylcyclohexaansulfonzuur (PFECHS)						
perfluor-n-octadecaanzuur (PFODA)	µg/l				0.05	
perfluor-1-dodecaansulfonzuur (PFDoDS)	µg/l				0.05	
perfluor-1-undecaansulfonzuur (PFUnDS)	µg/l				0.05	
perfluor-1-tridecaansulfonzuur (PFTrDS)	µg/l				0.05	
6:2 fluortelomeerfosfaat diester (6:2 diPAP)	µg/l				0.05	
6:2 fluortelomeersulfonzuur (6:2 FTS)	µg/l				0.01	
10:2 fluortelomeersulfonzuur (10:2 FTS)	µg/l				0.05	
perfluor-n-butaansulfonamide (PFBSA)	µg/l				0.01	

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>GW MKN Vlare m Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vlare bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ max</i>	<i>LOQ- eis CM A</i>
N-methylperfluor-n-butaan-sulfonamide (MePFBSA)	µg/l				0.01	
N-methylperfluor-n-butaan- sulfonylamide acetaat (MePFBSAA)	µg/l				0.01	
perfluor-n-hexaansulfonamide (PFHxSA)	µg/l				0.01	
perfluoroctaanzuur (som van lineaire en vertakte) (PFOAtotaal)	µg/l				0.05	
perfluoroctaansulfonzuur (som van lineaire en vertakte) (PFOSStotaal)	µg/l				0.05	
perfluoroctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte) (PFOSAtotaal)	µg/l				0.05	
N-methylperfluoroctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte) (MePFOSAtotaal)	µg/l				0.05	
N-ethylperfluoroctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte) (EtPFOSAtotaal)	µg/l				0.05	
perfluorhexaansulfonzuur (som van lineaire en vertakte) (PFHxStotaal)	µg/l				0.05	
PAKs		0.2 µg/l totaal (6 refstoffen)				
naftaleen	µg/l		20	6	1	2
benzo(a)pyreen	µg/l	0.033	0.4	0.01	0.03	0.1
fenanthreen	µg/l		20	6	0.03	1
fluorantheen	µg/l	0.033	2	0.01	0.03	0.2
benzo(a)anthraceen	µg/l		2	0.6	0.03	0.2
chryseen	µg/l		0.9	0.27	0.03	0.1
benzo(b)fluorantheen	µg/l	0.033	0.	0.01	0.03	0.1

			7			
benzo(k)fluorantheen	µg/l	0.033	0. 4	0.01	0.03	0.1
benzo(g,h,i)peryleen	µg/l	0.033	0. 1	0.01	0.03	0.0 5
indeno(1.2.3-c.d)pyreen	µg/l	0.033	0. 0 6	0.02	0.03	0.0 3
antraceen	µg/l		2 0	6	0.03	0.5
fluoreen	µg/l		2 0	6	0.03	0.5
dibenzo(a,h)antraceen	µg/l		0. 3	0.09	0.03	0.0 6
acenaftteen	µg/l		2 0	6	0.03	0.5
acenaftyleen	µg/l		2 0	6	0.03	0.5
pyreen	µg/l		2 0	6	0.03	0.5
PCB						
PCB 28	µg/l	0.1			0.02	
PCB 52	µg/l	0.1			0.02	

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>GW MKN Vlare m Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vlare bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ max</i>	<i>LOQ- eis CM A</i>
PCB 101	µg/l	0.1			0.02	
PCB 118	µg/l	0.1			0.02	
PCB 153	µg/l	0.1			0.02	
PCB 138	µg/l	0.1			0.02	
PCB 180	µg/l	0.1			0.02	
OCP		0.1 µg/l per stof 0.5 µg/l totaal				
aldrin	µg/l	0.1		0.03	0.01	0.0 1
dieldrin	µg/l	0.1		0.03	0.01	0.0 1
aldrin+dieldrin	µg/l		0. 0 2	0.006	0.02	
cis-chlordaan	µg/l	0.1		0.03	0.03	0.0 3
trans-chlordaan	µg/l	0.1		0.03	0.03	0.0 3
chlordaan (cis+trans)	µg/l		0. 1 2	0.036	0.06	
op'-DDD	µg/l	0.1		0.03	0.04	0.0 4
p,p'-DDD	µg/l	0.1		0.03	0.04	0.0 4
o,p'-DDE	µg/l	0.1		0.03	0.04	0.0 4
p,p'-DDE	µg/l	0.1		0.03	0.04	0.0 4
o,p'-DDT	µg/l	0.1		0.03	0.04	0.0 4
p,p'-DDT	µg/l	0.1		0.03	0.04	0.0 4
DDD+DDE+DDT	µg/l		1. 2	0.36	0.24	
lindaan (α-isomeer)	µg/l	0.1	0. 0 3	0.03	0.02	0.0 2
lindaan (β-isomeer)	µg/l	0.1	0. 1 2	0.03	0.025	0.0 25
lindaan (γ-isomeer)	µg/l	0.1	1.	0.03	0.05	0.2

			2			5
lindaan (δ -isomeer)	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.05	
isodrin	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.05	
endrin	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.05	
telodrin	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.05	
heptachloor	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.05	
α -heptachloorepoxide	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.05	
β -heptachloorepoxide	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.05	
α -endosulfan	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.07	0.0 7
β -endosulfan	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.07	0.0 7
endosulfansulfaat	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.07	0.0 7
endosulfan (α + β +sulfaat)	$\mu\text{g/l}$		1	0.09	0.2	
2.3.5.6-tetrachloornitrobenzeen (tecnazeen)	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.05	
pentachloornitrobenzeen (quintozeen)	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.05	
methoxychlor	$\mu\text{g/l}$	0.1		0.03	0.05	

<i>Parameter</i>	<i>Eenheid</i>	<i>GW MKN Vlare m Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vlare bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ_{max}</i>	<i>LOQ-eis CMA</i>
dicofol (p,p'-)	µg/l	0.1		0.03	0.03	
OPP						
azinfos-methyl	µg/l	0.1		0.03	0.025	
azinfos-ethyl	µg/l	0.1		0.03	0.025	
bromophos (bromophos-methyl)	µg/l	0.1		0.03	0.025	
bromophos-ethyl	µg/l	0.1		0.03	0.025	
chlorfenvinphos	µg/l	0.1		0.03	0.025	
chlorpyrifos	µg/l	0.1		0.03	0.025	
chlorpyrifos-methyl	µg/l	0.1		0.03	0.025	
diazinon	µg/l	0.1		0.03	0.025	
dichloorvos	µg/l	0.1		0.03	0.025	
dimethoat	µg/l	0.1		0.03	0.025	
ethoprofos	µg/l	0.1		0.03	0.025	
fenitrothion	µg/l	0.1		0.03	0.025	
fenthion	µg/l	0.1		0.03	0.025	
fonofos	µg/l	0.1		0.03	0.025	
malathion	µg/l	0.1		0.03	0.025	
methidathion	µg/l	0.1		0.03	0.025	
mevinfos	µg/l	0.1		0.03	0.025	
parathion-ethyl	µg/l	0.1		0.03	0.025	
parathion-methyl	µg/l	0.1		0.03	0.025	
pirimiphos-methyl	µg/l	0.1		0.03	0.025	
terbufos	µg/l	0.1		0.03	0.025	
disulfoton	µg/l	0.1		0.03	0.025	
ONP						
Triazineherbiciden	µg/l	0.1		0.03	0.025	
atrazine	µg/l	0.1		0.03	0.025	
cyanazine	µg/l	0.1		0.03	0.025	
desethylatrazine	µg/l	0.1		0.03	0.025	
hexazinone	µg/l	0.1		0.03	0.025	
prometryn	µg/l	0.1		0.03	0.025	
propazine	µg/l	0.1		0.03	0.025	
sebutylazine	µg/l	0.1		0.03	0.025	
simazine	µg/l	0.1		0.03	0.025	
terbutryn	µg/l	0.1		0.03	0.025	
terbutylazine	µg/l	0.1		0.03	0.025	
Uronen (fenylurea) en anilides						
alachlor	µg/l	0.1		0.03	0.025	
chloortoluron	µg/l	0.1		0.03	0.025	

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>GW MKN Vlare m Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vlare bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ max</i>	<i>LOQ- eis CM A</i>
diuron	µg/l	0.1		0.03	0.025	
isoproturon	µg/l	0.1		0.03	0.025	
linuron	µg/l	0.1		0.03	0.025	
metabenzthiazuron	µg/l	0.1		0.03	0.025	
metabromuron	µg/l	0.1		0.03	0.025	
metazachlor	µg/l	0.1		0.03	0.025	
metolachlor	µg/l	0.1		0.03	0.025	
metoxuron	µg/l	0.1		0.03	0.025	
monolinuron	µg/l	0.1		0.03	0.025	
propachlor	µg/l	0.1		0.03	0.025	
carbendazim	µg/l	0.1		0.03	0.025	
carbetamide	µg/l	0.1		0.03	0.025	
Andere (stikstof)pesticiden (W.7.17)						
desisopropylatrazine	µg/l	0.1		0.03	0.025	
chloridazon (pyrazon)	µg/l	0.1		0.03	0.025	
ethofumesate	µg/l	0.1		0.03	0.025	
metamitron	µg/l	0.1		0.03	0.025	
desethylterbutylazine	µg/l	0.1		0.03	0.025	
BAM (2.6-dichlorobenzamide)	µg/l	0.1		0.03	0.025	
bromacil	µg/l	0.1		0.03	0.025	
propanil	µg/l	0.1		0.03	0.1	
trifluralin	µg/l	0.1		0.03	0.1	
demeton	µg/l	0.1		0.03	0.1	
triazophos	µg/l	0.1		0.03	0.1	
coumafos	µg/l	0.1		0.03	0.025	
chlorpropham	µg/l	0.1		0.03	0.025	
glyfosaat	µg/l	0.1		0.03	0.05	
AMPA	µg/l	0.1		0.03	0.05	
Zure herbiciden						
2.4.5-trichloorfenoxo-azijnzuur (2.4.5-T)	µg/l	0.1		0.03	0.05	
2.4-dichloorfenoxoazijnzuur (2.4-D)	µg/l	0.1		0.03	0.05	
bentazon	µg/l	0.1		0.03	0.05	
dichlorprop	µg/l	0.1		0.03	0.05	
fenoprop (2.4-P)	µg/l	0.1		0.03	0.05	
fluroxypyr	µg/l	0.1		0.03	0.05	
MCPA	µg/l	0.1		0.03	0.05	
MCPB	µg/l	0.1		0.03	0.05	
mecoprop (MCP)	µg/l	0.1		0.03	0.05	
2.4-DB	µg/l	0.1		0.03	0.05	

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>GW MKN Vlare m Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vlare bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ max</i>	<i>LOQ- eis CM A</i>
dicamba	µg/l	0.1		0.03	0.3	
Kationische oppervlakteactieve stoffen (indiv.)	µg/l				10 indiv	
Gebromeerde brandvertragers						
BDE 28	µg/l				0.025	
BDE 47	µg/l				0.025	
BDE 99	µg/l				0.025	
BDE 100	µg/l				0.025	
BDE 153	µg/l				0.025	
BDE 154	µg/l				0.025	
BDE 209	µg/l				0.04	
HBCD	µg/l				0.02	
DBDPE	µg/l				0.02	
Organotinverbindingen						
dibutyltindichloride dibutyltinoxide dibutyltinzouten	µg Sn/l				0.03	
tetrabutyltin	µg/l				0.004	
tributyltin	µg/l				0.00006	
trifenylnitriet trifenylnitrochloride trifenylnitrohydroxide	µg/l				0.0001	
Aromatische amines						
aniline	µg/l				0.1	
2-chloroaniline 3-chloroaniline 4-chloroaniline	µg/l				0.1 indiv	
2,3-dichloroaniline 2,4-dichloroaniline 2,5-dichloroaniline 2,6-dichloroaniline	µg/l				0.01 indiv	

3,5-dichloroaniline						
3,4-dichloroaniline	µg/l				0.1	
2-chloro-4-methylaniline 3- chloro-2-methylaniline 4- chloro-2-methylaniline 2- chloro-5-methylaniline 2- chloro-6-methylaniline 4-chloro-3-methylaniline	µg/l				0.4 indiv	
3,3'-dichlorobenzidine 4,4'-diamino-2,2'-dichlorobiphenyl	µg/l				0.07 indiv	
2-amino-4-chlorophenol	µg/l				3	
4-chloor-2-nitroaniline	µg/l				0.6	

<i>Parameter</i>	<i>Eenh eid</i>	<i>GW MKN Vla re m Bijlage 2.4.1</i>	<i>G W Richt w Vla re bo</i>	<i>30% NW cfr 2009/90 /EC</i>	<i>LOQ max</i>	<i>LOQ- eis CM A</i>
benzidine	µg/l				0.18	
4,4'-diaminofenylmethaan	µg/l				0.1	
4,4'-methylenebis(2-chloroaniline)	µg/l				0.1	
2,4-diaminotolueen	µg/l				0.1	

Tabel 7: Drinkwater (DW) – organische parameters

<i>Parameter</i>	<i>Een h e i d</i>	<i>DW richtl ijn</i>	<i>3 0 % N W cfr 2009/ 90/ EC</i>	<i>LOQ max</i>
Acrylamide	µg/ l	0.1 ⁽²⁾	0.0 3	0.03
Minerale olie (GC)	µg/ l			100
Geëmulgeerde of opgeloste koolwaterstoffen (na extractie met ether) minerale oliën	µg/ l			
Petroleumether extraheerbare stoffen	mg /l			20
Perchloorethyleen extraheerbare apolaire stoffen	mg /l			0.4
Oliën en Vetten (IR)	mg /l			0.4
Oliën en vetten (gravim)	mg /l			20
EOX	µg Cl/l			5
AOX	µg Cl/l			20
POX	µg Cl/l			10
VOCi. MAK				
epichloorhydrine	µg/ l	0.1 ⁽²⁾	0.0 3	0.03

vinylchloride	µg/ l	0.5 ⁽²⁾	0.1	0.5
chloorethaan	µg/ l			1
1.1-dichlooretheen	µg/ l			1
dichloormethaan	µg/ l			2.5
1.1-dichloorethaan	µg/ l			1
2.2-dichloorpropaan	µg/ l			1
1.2-dichlooretheen. cis	µg/ l			1
1.2-dichlooretheen. trans	µg/ l			1
1.2-dichloorethenen (som)	µg/ l			1
broomchloormethaan	µg/ l			1

<i>Parameter</i>	<i>Een h e i d</i>	<i>DW richtl ijn</i>	<i>3 0 % N W cfr 2009/ 90/ EC</i>	<i>LOQ max</i>
chloroform (trichloormethaan)	μ g /l		8	8
1.1.1-trichloorethaan	μ g /l			1
1.1-dichloorpropeen	μ g /l			1
koolstoftetrachloride (tetrachloormethaan)	μ g /l			1
1.2-dichloorethaan (EDC)	μ g /l	3	0.9	0.9
trichloorethyleen	μ g /l		1	1
1.2-dichloorpropaan	μ g /l			1
dibroommethaan	μ g /l			1
broomdichloormethaan	μ g /l	60	8	8
1.3-dichloorpropeen-cis	μ g /l			1
1.3-dichloorpropeen-trans	μ g /l			1
1.1.2-trichloorethaan	μ g /l			1
tetrachloorethyleen	μ g /l		1	1
1.3-dichloorpropaan	μ g /l			1
dibroomchloormethaan	μ g /l		8	8
1.2-dibroomethaan	μ			1

	g /l			
chloorbenzeen	μ g /l			1
1.1.1.2-tetrachloorethaan	μ g /l			1
bromoform (tribroommethaan)	μ g /l		8	8
1.1.2.2-tetrachloorethaan	μ g /l			1
broombenzeen	μ g /l			1
1.2.3-trichloorpropaan	μ g /l			1
2-chloortolueen	μ g /l			1
4-chloortolueen	μ g /l			1
1.3-dichloorbenzeen	μ g /l			1
1.4-dichloorbenzeen	μ g /l			1
1.2-dichloorbenzeen	μ g /l			1
1.2-dibroom-3-chloorpropaan	μ g /l			1
1.2.4-trichloorbenzeen	μ g /l			2
hexachloorbutadien	μ g /l			0.1
1.2.3-trichloorbenzeen	μ g /l			2
1.3.5-trichloorbenzeen	μ g /l			2
trichloorbenzenen (som)	μ g /l	20	6	6
tetrachlooretheen + trichlooretheen	μ g /l	10	3	3

trihalomethanen-totaal	μ g /l	100	30	30
MAK				
benzeen	μ g /l	1	0.3	0.3
tolueen	μ g /l			1
ethylbenzeen	μ g /l			1

<i>Parameter</i>	<i>Een h e i d</i>	<i>DW richtl ijn</i>	<i>3 0 % N W cfr 2009/ 90/ EC</i>	<i>LOQ max</i>
m- + p-xyleen	μ g /l		50	50
o-xyleen	μ g /l		50	50
xylenen (som)	μ g /l	500	150	150
styreen	μ g /l	20	6	6
isopropylbenzeen	μ g /l			1
n-propylbenzeen	μ g /l			1
1.3.5-trimethylbenzeen	μ g /l			1
tert-butylbenzeen	μ g /l			1
1.2.4-trimethylbenzeen	μ g /l			1
1.2.3-trimethylbenzeen	μ g /l			1
sec butylbenzeen	μ g /l			1
p-isopropyltolueen	μ g /l			1
n-butylbenzeen	μ g /l			1
naftaleen	μ g /l			1
methyl-t-butyl-ether (MTBE)	μ g /l			4
n-hexaan	μ			4

	g /l			
n-heptaan	μ g /l			10
n-octaan	μ g /l			10
CIKWS (matig vluchtige)				
hexachloorethaan	μ g /l			0.5
1.3.5-trichloorbenzeen	μ g /l			2
1.2.4-trichloorbenzeen	μ g /l			2
1.2.3-trichloorbenzeen	μ g /l			2
trichloorbenzenen (som)	μ g /l			6
hexachloorbutadieen (HCBd)	μ g /l			0.1
(1.2.3.5+1.2.4.5)-tetrachloorbenzeen	μ g /l			0.2
1.2.3.4-tetrachloorbenzeen	μ g /l			0.1
2-chloornaftaleen	μ g /l			0.1
1-chloornaftaleen	μ g /l			0.1
pentachloorbenzeen	μ g /l			0.1
hexachloorbenzeen	μ g /l			0.1
Fenolen				
fenol	μ g /l			0.5
2-methylfenol (o-cresol)	μ g /l			0.1
3-methylfenol (m-cresol)	μ			0.1

	g /l			
4-methylfenol (p-cresol)	μ g /l			0.1
2.3-dimethylfenol (a)	μ g /l			0.1

<i>Parameter</i>	<i>Een h e i d</i>	<i>DW richtl ijn</i>	<i>3 0 % N W cfr 2009/ 90/ EC</i>	<i>LOQ max</i>
2.4-dimethylfenol	μ g /l			0.1
2.5-dimethylfenol	μ g /l			0.1
2.6-dimethylfenol	μ g /l			0.1
3.4-dimethylfenol	μ g /l			0.1
3.5-dimethylfenol (a)	μ g /l			0.1
2-ethylfenol	μ g /l			0.1
3-ethylfenol	μ g /l			0.1
4-ethylfenol (a)	μ g /l			0.1
2-isopropylfenol	μ g /l			0.1
2.3.5-trimethylfenol	μ g /l			0.1
t-octylfenol	μ g /l			0.03
nonylfenol	μ g /l			0.3
bisfenol A	μ g /l			0.1
4-chloor-3-methylfenol	μ g /l			0.1
4-chloor-3.5-dimetylfenol (dettol)	μ g /l			0.1
2-chloorfenol	μ g			0.1

	/l			
3-chloorfenol	μ g /l			0.1
4-chloorfenol	μ g /l			0.1
2.3-dichloorfenol	μ g /l			0.1
2.4-dichloorfenol (b)	μ g /l			0.1
2.5-dichloorfenol (b)	μ g /l			0.1
2.6-dichloorfenol	μ g /l			0.1
3.4-dichloorfenol	μ g /l			0.1
3.5-dichloorfenol (b)	μ g /l			0.1
2.3.4-trichloorfenol	μ g /l			0.1
2.3.5-trichloorfenol	μ g /l			0.1
2.3.6-trichloorfenol	μ g /l			0.1
2.4.5-trichloorfenol	μ g /l			0.1
2.4.6-trichloorfenol	μ g /l			0.1
3.4.5-trichloorfenol	μ g /l			0.1
2.3.4.5-tetrachloorfenol	μ g /l			0.1
2.3.4.6-tetrachloorfenol	μ g /l			0.1
2.3.5.6-tetrachloorfenol	μ g /l			0.1
pentachloorfenol	μ g /l			0.05

Organofluorverbindingen - PFAS		0.1 µg/l som		
perfluor-n-butaanzuur (PFBA)	µ g /l			0.01
perfluor-n-pentaanzuur (PFPeA)	µ g /l			0.01
perfluor-n-hexaanzuur (PFHxA)	µ g /l			0.01

<i>Parameter</i>	<i>Een h e i d</i>	<i>DW richtl ijn</i>	<i>3 0 % N W cfr 2009/ 90/ EC</i>	<i>LOQ max</i>
perfluor-n-heptaanzuur (PFHpA)	μ g /l			0.01
perfluor-n-octaanzuur (PFOA)	μ g /l			0.01
perfluor-n-nonaanzuur (PFNA)	μ g /l			0.01
perfluor-n-decaanzuur (PFDA)	μ g /l			0.01
perfluor-n-undecaanzuur (PFUnDA)	μ g /l			0.01
perfluor-n-dodecaanzuur (PFDoDA)	μ g /l			0.01
perfluor-n-tridecaanzuur (PFTrDA)	μ g /l			0.05
perfluor-n-tetradecaanzuur (PFTeDA)	μ g /l			0.01
perfluor-n-hexadecaanzuur (PFHxDA)	μ g /l			0.01
perfluor-n-butaansulfonzuur (PFBS)	μ g /l			0.01
perfluor-n-pentaansulfonzuur (PFPeS)	μ g /l			0.01
perfluor-n-hexaansulfonzuur (PFHxS)	μ g /l			0.01
perfluor-n-heptaansulfonzuur (PFHpS)	μ g /l			0.01
perfluor-n-octaansulfonzuur (PFOS)	μ g /l			0.01
perfluor-n-nonaansulfonzuur (PFNS)	μ g /l			0.01
perfluor-n-decaansulfonzuur (PFDS)	μ g			0.01

	/l			
4:2 fluortelomeersulfonzuur (4:2 FTS)	μ g /l			0.01
8:2 fluortelomeersulfonzuur (8:2 FTS)	μ g /l			0.01
perfluor-n-octaansulfonamide (PFOSA)	μ g /l			0.01
N-methylperfluorooctaansulfonamide (MePFOSA)	μ g /l			0.01
N-ethylperfluorooctaansulfonamide (EtPFOSA)	μ g /l			0.01
N-methylperfluorooctaansulfonamido-azijnzuur (MePFOSAA)	μ g /l			0.01
N-ethylperfluorooctaansulfonamido-azijnzuur (EtPFOSAA)	μ g /l			0.01
8:2 fluortelomeerfosfaat diester (8:2 diPAP)	μ g /l			0.01
6:2/8:2 fluortelomerfosfaat diester (6:2 8:2 diPAP)	μ g /l			0.05
perfluor-2-propoxypropaanzuur (HFPO-DA)	μ g /l			0.01
4,8-dioxa-3H-perfluornonaanzuur (DONA)	μ g /l			0.01
perfluor-4-ethylcyclohexaansulfonzuur (PFECHS)	μ g /l			0.01
perfluor-n-octadecaanzuur (PFODA)	μ g /l			0.05
perfluor-n-dodecaansulfonzuur (PFDoDS)	μ g /l			0.05
perfluor-n-undecaansulfonzuur (PFUnDS)	μ g /l			0.05
perfluor-n-tridecaansulfonzuur (PFTrDS)	μ g /l			0.05
6:2 fluortelomeerfosfaat diester (6:2 diPAP)	μ g /l			0.05
6:2 fluortelomeersulfonzuur (6:2 FTS)	μ g /l			0.01
10:2 fluortelomeersulfonzuur (10:2 FTS)	μ			0.05

	g /l			
perfluor-n-butaansulfonamide (PFBSA)	μ g /l			0.01
N-methylperfluor-n-butaansulfonamide (MePFBSA)	μ g /l			0.01
N-methylperfluor-n-butaansulfonylamide acetaat (MePFBSAA)	μ g /l			0.01
perfluor-n-hexaansulfonamide (PFHxSA)	μ g /l			0.01
perfluorooctaanzuur (som van lineaire en vertakte) (PFOAtotaal)	μ g /l			0.05
perfluorooctaansulfonzuur (som van lineaire en vertakte)	μ g /l			0.05

Parameter	Eenheid	DWrichtlijn	30% NW cfr 2009/ 90/ EC	LOQ _{max}
(PFOSStotaal)				
perfluorooctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte) (PFOSAtotaal)	µg/l			0.05
N-methylperfluorooctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte) (MePFOSAtotaal)	µg/l			0.05
N-ethylperfluorooctaansulfonamide (som van lineaire en vertakte) (EtPFOSAtotaal)	µg/l			0.05
perfluorhexaansulfonzuur (som van lineaire en vertakte) (PFHxStotaal)	µg/l			0.05
PAKs		0.1 µg/l (4- ref stoffen 10 refstoffen)		
naftaleen	µg/l			1
benzo(a)pyreen	µg/l	0.01	0.003	0.003
fenanthreen	µg/l			0.03 0.01
fluorantheen	µg/l			0.03 0.01
benzo(a)anthraceen	µg/l			0.03 0.01
chryseen	µg/l			0.03 0.01
benzo(b)fluorantheen	µg/l	0.025	0.007	0.007 0.01
benzo(k)fluorantheen	µg	0.025	0.007	0.007 0.01

	/l			
benzo(g,h,i)peryleen	μ g /l	0.025	0.0 07	0.00 7 0.01
indeno(1.2.3-c,d)pyreen	μ g /l	0.025	0.0 07	0.00 7 0.01
antraceen	μ g /l			0.03 0.01
fluoreen	μ g /l			0.03
dibenzo(a,h)antraceen	μ g /l			0.03
acenaftteen	μ g /l			0.03
acenaftyleen	μ g /l			0.03
pyreen	μ g /l			0.03 0.01
PCB				
PCB 28	μ g /l			0.02
PCB 52	μ g /l			0.02
PCB 101	μ g /l			0.02
PCB 118	μ g /l			0.02
PCB 153	μ g /l			0.02

<i>Parameter</i>	<i>Een h e i d</i>	<i>DW richtl ijn</i>	<i>3 0 % N W cfr 2009/ 90/ EC</i>	<i>LOQ max</i>
PCB 138	μ g /l			0.02
PCB 180	μ g /l			0.02
OCP		Pesticide n: 0.1 μg/l indiv 0.5μ g/l totaal ⁽¹⁾		
aldrin	μ g /l	0.03	0.0 1	0.03
dieldrin	μ g /l	0.03	0.0 1	0.03
cis-chlordaan	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
trans-chlordaan	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
op'-DDD	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
p.p'-DDD	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
o.p'-DDE	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
p.p'-DDE	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
o.p'-DDT	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
p.p'-DDT	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
lindaan (α-isomeer)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03

lindaan (β -isomeer)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
lindaan (γ -isomeer)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
lindaan (δ -isomeer)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
isodrin	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
endrin	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
telodrin	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
heptachloor	μ g /l	0.03	0.0 1	0.03
α -heptachloorepoxide	μ g /l	0.03	0.0 1	0.03
β -heptachloorepoxide	μ g /l	0.03	0.0 1	0.03
α -endosulfan	μ g /l	0.1	0.0 3	0.07
β -endosulfan	μ g /l	0.1	0.0 3	0.07
endosulfansulfaat	μ g /l	0.1	0.0 3	0.07
2,3,5,6-tetrachloornitrobenzeen (tecnazeen)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
pentachloornitrobenzeen (quintozeen)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
methoxychlor	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
dicofol (p,p'-)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
OPP				
azinfos-methyl	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
azinfos-ethyl	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03

bromophos (bromophos-methyl)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
bromophos-ethyl	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
chlorfenvinphos	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03

<i>Parameter</i>	<i>Een h e i d</i>	<i>DW richtl ijn</i>	<i>3 0 % N W cfr 2009/ 90/ EC</i>	<i>LOQ max</i>
chlorpyrifos	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
chlorpyrifos-methyl	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
diazinon	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
dichloorvos	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
dimethoat	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
ethoprofos	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
fenitrothion	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
fenthion	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
fonofos	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
malathion	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
methidathion	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
mevinfos	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
parathion-ethyl	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
parathion-methyl	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
pirimiphos-methyl	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
terbufos	μ g	0.1	0.0 3	0.03

	/l			
disulfoton	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
ONP				
Triazineherbiciden				
atrazine	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
cyanazine	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
desethylatrazine	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
hexazinone	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
prometryn	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
propazine	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
sebutylazine	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
simazine	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
terbutryn	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
terbutylazine	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
uronen (fenylurea) en anilides				
alachlor	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
chloortoluron	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
diuron	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
isoproturon	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
linuron	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03

metabenzthiazuron	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
metabromuron	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
metazachlor	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
metolachlor	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03

<i>Parameter</i>	<i>Een h e i d</i>	<i>DW richtl ijn</i>	<i>3 0 % N W cfr 2009/ 90/ EC</i>	<i>LOQ max</i>
metoxuron	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
monolinuron	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
propachlor	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
carbendazim	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
carbetamide	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
Andere (stikstof)pesticiden (W.7.17)				
desisopropylatrazine	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
chloridazon (pyrazon)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
ethofumesate	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
metamitron	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
desethylterbutylazine	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
BAM (2.6-dichlorobenzamide)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
bromacil	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
propanil	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
trifluralin	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
demeton	μ g	0.1	0.0 3	0.03

	/l			
triazophos	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
coumafos	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
chlorpropham	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
glyfosaat	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
AMPA	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
Zure herbiciden				
2.4.5-trichloorfenox-y-azijnzuur (2.4.5-T)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
2.4-dichloorfenox-y-azijnzuur (2.4-D)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
bentazon	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
dichlorprop	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
fenoprop (2.4-P)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
fluroxypyr	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
MCPA	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
MCPB	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
mecoprop (MCP)	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
2.4-DB	μ g /l	0.1	0.0 3	0.03
dicamba	μ g /l	0.1	0.0 3	0.3
Kationische oppervlakteactieve stoffen (indiv.)	μ g /l			10 indiv

Gebromeerde brandvertragers				
BDE 28	μ g /l			0.025
BDE 47	μ g /l			0.025

<i>Parameter</i>	<i>Een h e i d</i>	<i>DW richtl ijn</i>	<i>3 0 % N W cfr 2009/ 90/ EC</i>	<i>LOQ max</i>
BDE 99	μ g /l			0.025
BDE 100	μ g /l			0.025
BDE 153	μ g /l			0.025
BDE 154	μ g /l			0.025
BDE 209	μ g /l			0.04
HBDCD	μ g /l			0.02
DBDPE	μ g /l			0.02
Organotinverbindingen				
dibutyltindichloride dibutyltinoxide dibutyltinzouten	μ g S n /l			0.03
tetrabutyltin	μ g /l			0.004
tributyltin	μ g /l			0.000 06
trifenylnitriet trifenylnitrochloride trifenylnitrohydroxide	μ g /l			0.000 1
Aromatische aminen				
aniline	μ g /l			0.1
2-chloroanilin	μ			0.1 indiv

e 3-chloroaniline e 4-chloroaniline	g /l			
2,3-dichloroaniline 2,4-dichloroaniline 2,5-dichloroaniline 2,6-dichloroaniline 3,5-dichloroaniline	μ g /l			0.01 indiv
3,4-dichloroaniline	μ g /l			0.1
2-chloro-4-methylaniline 3- chloro-2-methylaniline 4- chloro-2-methylaniline 2- chloro-5-methylaniline 2- chloro-6-methylaniline 4-chloro-3-methylaniline	μ g /l			0.4 indiv
3,3'-dichlorobenzidine 4,4'-diamino-2,2'-dichlorobiphenyl	μ g /l			0.07 indiv
2-amino-4-chlorophenol	μ g /l			3
4-chloor-2-nitroaniline	μ g /l			0.6
benzidine	μ g /l			0.18
4,4'-diaminofenylmethaan	μ g /l			0.1
4,4'-methylenebis(2-chloroaniline)	μ g /l			0.1
2,4-diaminotolueen	μ g /l			0.1
Ftaalzuuresters				

<i>Parameter</i>	<i>Een h e i d</i>	<i>DW richtl ijn</i>	<i>3 0 % N W cfr 2009/ 90/ EC</i>	<i>LOQ max</i>
dimethylftalaat (DMP)	μ g /l			1
diethylftalaat (DEP)	μ g /l			1
di-n-butylftalaat (DBP)	μ g /l			1
di-isobutylftalaat (DiBP)	μ g /l			1
benzylbutylftalaat (BBP)	μ g /l			1
di-n-octylftalaat (DnOP)	μ g /l			1
dicyclohexylftalaat (DCHP)	μ g /l			1
dipropylftalaat (DPrP)	μ g /l			1
di-n-pentylftalaat (DnPP)	μ g /l			1
di-isopentylftalaat (DIPP)	μ g /l			1
n-pentylisopentylftalaat (PIPP)	μ g /l			1
di-n-hexylftalaat (DnHxP)	μ g /l			1
di-isohexylftalaat (DIHxP)	μ g /l			1
di-n-heptylftalaat (DnHpP)	μ g /l			1
di(2-ethylhexyl)ftalaat (DEHP)	μ g /l			2
di-n-undecylftalaat (DnUP)	μ g			1

	/l			
di-isoheptylftalaat (mix van isomeren) (DIHxP-mix)	μ g /l			5
di-isoheptylftalaat (mix van isomeren) (DIHpP-mix)	μ g /l			5
di-isononylftalaat (mix van isomeren) (DINP-mix)	μ g /l			5
di-isodecylftalaat (mix van isomeren) (DIDP-mix)	μ g /l			5
di-isoundecylftalaat (mix van isomeren) (DIUP-mix)	μ g /l			5

(1) M.u.v. dieldrin. aldrin. heptachlor. heptachlorepoxyde

(2) Wordt berekend

Kwaliteitseisen voor de analysemethoden

INHOUD

1	Doel en toepassingsgebied	3
2	Kwaliteitseisen voor de anorganische parameters (WAC Deel III)	3
3	Kwaliteitseisen voor de organische parameters (WAC Deel IV)	6
4	Kwaliteitseisen voor de bacteriologische parameters (WAC Deel V)	9
4.1	<i>Eerstelijnscontrole</i>	9
4.1.1	Blanco controle totaal kiemgetal	10
4.1.2	Blanco controle overige parameters	10
4.1.3	Frequentie en criteria voor blanco controle	10
4.1.4	Positieve controle in geval van aangekochte kant-en-klare media met kwaliteitscertificaat	10
4.1.5	Positieve controle in geval van zelf bereide media	11
4.1.6	pH controle	11
4.1.7	Opvolging van afwijkende controles	11
4.2	<i>Tweedelijnscontrole</i>	11
4.3	<i>Derdelijnscontrole</i>	12
5	Referenties	12

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure vervangt procedure WAC/VI/A/003 van mei 2022.

De kwaliteitseisen, opgenomen in deze procedure, zijn algemeen toepasbaar voor de bepaling van diverse parameters in water. Voor de kwaliteitseisen bij de bepaling van organische parameters werden criteria vastgelegd die voor alle procedures beschreven onder WAC/IV van toepassing zijn (met uitzondering van ureum (WAC/IV/A/001) en fenolindex (WAC/IV/B/001)). Voor de kwaliteitseisen bij de bepaling van anorganische en bacteriologische parameters werden in deze procedure algemene richtlijnen vastgelegd. Bijkomend kunnen voor een welbepaalde anorganische en bacteriologische parameter specifieke/bijkomende eisen worden voorgeschreven in de betreffende procedure.

2 KWALITEITSEISEN VOOR DE ANORGANISCHE PARAMETERS (WAC DEEL III)

(1) Lineariteit

- Het kalibratiemodel (lineair of kwadratisch) wordt vastgelegd bij de validatie en dient periodiek gecontroleerd te worden volgens één van de volgende procedures:
 - o Minstens halfjaarlijks controle van het kalibratiemodel en bij elke ernstige instrumentele ingreep, of
 - o Controle van de residuele standaard afwijkingen bij de lineaire/kwadratische regressie analyse, enkel van toepassing indien het volledige meetgebied wordt gekalibreerd.

(2) Gevoeligheid

- Minstens bij het begin van elke meetreeks dient de toestelgevoeligheid gecontroleerd te worden. Het toestel moet voldoende gevoelig zijn en blijven om de rapportagegrens te kunnen halen. De toegepaste procedure mag ingevuld worden door het laboratorium.
Bv. Ionenchromatografie, spectrofotometrie: oppervlakte van een welbepaalde parameter

(3) Kalibratie

- Indien de kalibratie gebeurt dmv een kalibratierechte worden bij elke meetreeks minstens 5 kalibratieoplossingen geanalyseerd (eventueel inclusief nul) en verspreid over het lineair gebied. Vervolgens wordt dmv lineaire regressie de vergelijking van de kalibratierechte berekend waarbij de correlatiecoëfficiënt minstens 0.995 bedraagt. Daarbij mag maximum 1 punt verwijderd worden, maar niet het laagste punt, en dienen er minstens 4 punten behouden te worden. Verwijdering van het hoogste kalibratiepunt, resulteert in een inperking van het kalibratiegebied. De afwijking van elk punt tot de rechte mag niet meer dan 10% bedragen (met uitzondering van punt op niveau $\leq 2 \times$ rapportagegrens). De afwijking van het punt op niveau $\leq 2 \times$ rapportagegrens mag maximaal 25% afwijken van de rechte.
- Indien de rapportagegrens lager is dan de $\frac{1}{2}$ van de laagste concentratie van de kalibratie oplossing (verschillend van nul) dient een bijkomende controle te worden uitgevoerd op het niveau van de rapportagegrens. De afwijking van het punt op niveau van de rapportagegrens mag maximaal 25% afwijken van de theoretische waarde.

- Indien niet aan één van de criteria wordt voldaan, zal een nieuwe kalibratie worden opgesteld al dan niet met nieuwe kalibratieoplossingen.

Opmerking: Het criterium van de afwijking van elk kalibratiepunt tot de rechte heeft betrekking op de concentratie.

Opmerking: Standaardoplossingen worden aangemaakt in een vergelijkbaar medium (bv. zuur, H_2O ,...) als de monsters.

Opmerking: De toegestane afwijking dient steeds te worden vastgelegd in relatie met de meetonzekerheid. Bij kleine meetonzekerheden is de toegestane afwijking kleiner.

- Indien bij validatie gebleken is dat er geen lineair maar een kwadratisch verband is tussen concentratie en respons, dan kan een kwadratische curve gebruikt worden voor de kalibratie. Daarbij mag maximum 1 punt verwijderd worden, maar niet het laagste punt, en dienen er minstens 5 punten (verschillend van de oorsprong) behouden te worden. Verwijdering van het hoogste kalibratiepunt, resulteert in een inperking van het kalibratiegebied. De afwijking van elk punt tot de rechte mag niet meer dan 10% bedragen (met uitzondering van punt op niveau $\leq 2 \times$ rapportagegrens). De afwijking van het punt op niveau $\leq 2 \times$ rapportagegrens mag maximaal 25% afwijken van de rechte. Indien niet aan één van de criteria wordt voldaan, zal een nieuwe kalibratie worden opgesteld al dan niet met nieuwe kalibratieoplossingen.

Opmerking: Het criterium van de afwijking van elk kalibratiepunt tot de rechte heeft betrekking op de concentratie.

Opmerking: De toegestane afwijking dient steeds te worden vastgelegd in relatie met de meetonzekerheid. Bij kleine meetonzekerheden is de toegestane afwijking kleiner.

- Indien mogelijk, de kalibratielijnen niet door de oorsprong forceren.
- Na de kalibratie worden volgende oplossingen gemeten en gecontroleerd:
 - o Procedure- en/of kalibratieblanco-oplossing: de blanco meetwaarde is kleiner dan de helft van de rapporteergrens of max. 10% van de meetwaarde, afhankelijk van wat hoogste is van de beiden;
 - o Onafhankelijke controlestandaard en/of driftcontrole: de gemeten concentratie mag maximum 10% afwijken van de werkelijke waarde.
- De kalibratiecurve wordt geverifieerd op het einde van elke meetreeks door analyse van de drift controle. De gemeten concentratie mag maximum 10% afwijken van de werkelijke waarde.
- Bij elke reeks monsters wordt een procedureblanco meegenomen. De procedureblanco doorloopt de volledige analysecyclus. De waarde van de blanco dient opgevolgd te worden. Behoudens vermeld in de procedure, wordt de blancocorrectie niet toegepast.

Opmerking: Voor het controleren van de procedureblanco wordt steeds gebruik gemaakt van wisselende recipiënten.

- Wanneer geen dagelijkse kalibratie wordt uitgevoerd, worden minimaal volgende controles uitgevoerd:
 - o Meting van (hoogste) kalibratiestandaard: de gemeten concentratie mag maximum 10% afwijken van de werkelijke waarde.
 - o Procedure- en/of kalibratieblanco-oplossing: de blanco meetwaarde is kleiner dan de helft van de rapporteergrens of max. 10% van de meetwaarde, afhankelijk van wat hoogste is van de beiden;

- o Onafhankelijke controlestandaard en/of driftcontrole: de gemeten concentratie mag maximum 10% afwijken van de werkelijke waarde. Bij een lineaire regressie wordt 1 controlestandaard gemeten, terwijl bij een kwadratische regressie 2 controlestandaarden (bv. concentratieniveau 1/3 en 2/3 van het meetgebied) worden gemeten.

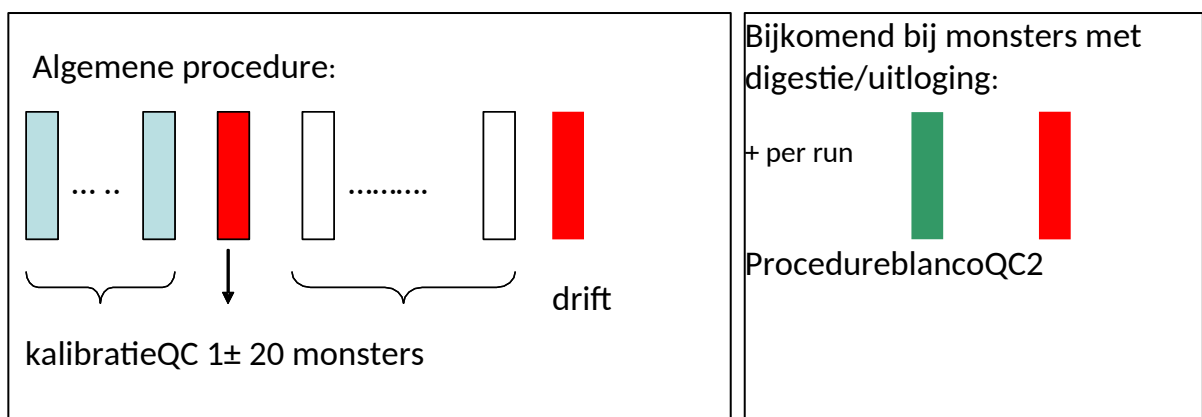
(4) Standaardadditie: Bij de standaardadditiemethode worden bekende hoeveelheden van een analyt toegevoegd aan een onbekende hoeveelheid analyt. De matrix heeft op deze manier hetzelfde effect op de toegevoegde analyt als op de originele analyt in onbekende concentratie. Het matrix-effect wordt hierdoor als het ware gecompenseerd. Aan de hand van de toename in het signaal kan er worden afgeleid hoeveel analyt er in het originele, onbekende monster zat. Deze methode vereist een lineaire respons op de analyt. Hierbij wordt doorgaans aanbevolen om te doperen op een concentratieniveau van bijv. 50, 100 en 150% van de concentratie van de analyt, en dit op minstens 2 concentratieniveaus.

(5) Algemeen toepasbare procedure (inclusief monstervoorbehandeling) voor methoden gebruikmakend van een kalibratielijn

In onderstaand schema wordt volgende verduidelijking van procedure geformuleerd:

- QC 1: onafhankelijk aangemaakte controle;
- Analysereeks van ± 20 monsters: dit is een indicatief aantal, de laboratoria moeten kunnen aantonen dat de frequentie van uitvoering van QA/QC zo gekozen is dat het voldoende kwaliteitsgaranties biedt;
- Drift: kalibratiestandaard of onafhankelijke standaard (QC1);
- Bij monsters met een destructie/uitloging dient per reeks (run van een digestie/uitlogingstoestel) een procedureblanco en een QC monster (QC2) die beiden de hele procedure hebben doorlopen, mee geanalyseerd te worden.

Het ondervangen van mogelijke memory effecten dient bijkomend voorzien te worden.



De criteria voor de kwaliteitscontroles dienen binnen het laboratorium zodanig te worden gedefinieerd dat voldaan wordt aan de wettelijk vastgelegde prestatiekenmerken. De meetwaarde van QC1 dient binnen $\pm 10\%$ te liggen van de werkelijke waarde.

(6) Controlestaal

Bij elke reeks monsters wordt 1 controlestaal meegenomen. Dit controlestaal doorloopt de volledige analysecyclus. Indien meerdere reeksen per dag geanalyseerd worden, volstaat 1 controlestaal per dag.

Als controlestaal kan gebruikt worden :

- een gecertificeerd referentiemateriaal
- een reëel staal
- gedefinieerde synthetische matrix
- een gedopeerd staal, waarbij gedopeerd wordt aan een matrix die representatief is voor de stalen die in het laboratorium geanalyseerd worden. Alle representatieve matrices dienen in de loop der tijd aan bod te komen.

(7) Duplo analyseren (als alternatief van controlestaal, indien dit niet beschikbaar is)

Bij elke reeks monsters wordt 1 duplo analyse meegenomen. Indien meerdere reeksen per dag geanalyseerd worden, volstaat 1 duplo analyse per dag.

3 KWALITEITSEISEN VOOR DE ORGANISCHE PARAMETERS (WAC DEEL IV)

Voorafgaande opmerking : een “meetreeks” duurt maximum 72 uur.

(1) Lineariteit

Het kalibratiemodel (lineair, of kwadratisch, of bracketing) wordt vastgelegd bij validatie. Onder ‘bracketing’ wordt verstaan dat er gewerkt wordt met verschillende opeenvolgende lineaire deelgebieden. De lineariteit dient halfjaarlijks en bij elke ernstige instrumentele ingreep gecontroleerd te worden, inclusief berekening en evaluatie van de residuele afwijkingen van elk punt.

(2) Kalibratie

- indien de kalibratie gebeurt dmv de relatieve responsfactor, wordt de RRF bepaald met minstens één kalibratieoplossing. Minstens aan het begin en op het einde van elke meetreeks, en verder om de maximum 15 stalen, wordt de kalibratieoplossing geïnjecteerd. De concentraties in deze kalibratieoplossing liggen ongeveer in het midden van het lineair gebied of zijn representatief voor de verwachte monsterconcentraties. De berekening van de concentraties in een staal gebeurt aan de hand van de gemiddelde RRF van de 2 kalibratieoplossingen waartussen het staal geïnjecteerd werd. De RRFen van de 2 opeenvolgende kalibratieoplossingen mogen niet meer dan 10 % van hun gemiddelde afwijken (behalve voor VOC, fenolen en OPP/triazines : 15%).

- indien de kalibratie gebeurt aan de hand van ‘bracketing’ wordt de kalibratiereeks geïnjecteerd bij het begin en bij het einde van de meetreeks, en verder om de maximum 15 stalen. De berekening van de concentraties in een staal gebeurt aan de hand van de gemiddelde RRF van de 2 injecties van de 2 punten waartussen het staal begrepen is. De RRFen van de 2 opeenvolgende overeenkomstige kalibratieoplossingen mogen niet meer dan 10 % van hun gemiddelde afwijken (behalve voor VOC, fenolen en OPP/triazines : 15%).

- indien de kalibratie gebeurt dmv een kalibratierechte worden bij elke meetreeks minstens 4 kalibratieoplossingen geanalyseerd met concentraties groter dan nul en verspreid over het lineair

gebied. De laagste concentratie mag niet hoger zijn dan 2 keer de ondergrens van het meetbereik. Vervolgens wordt dmv lineaire regressie de vergelijking van de kalibratierechte berekend. Daarbij mag maximum 1 punt verwijderd worden en er dienen minstens 4 punten (verschillend van de oorsprong) behouden te worden. Indien het laagste punt weggelaten wordt dient de rapportagegrens aangepast te worden. Indien het hoogste punt weggelaten wordt, wordt het meetbereik bovenaan ingeperkt. De afwijking van elk punt tot de rechte mag niet meer dan ~~15%~~ 20% bedragen. Het laagste punt mag 25% afwijken van de rechte. Als de kalibratiestandaarden de staalopwerking doorlopen mogen de punten 20% afwijken en het laagste punt 35%. Voor de meting van pesticiden met LC volgens WAC/IV/A/027 mag de afwijking van elk punt tot de rechte niet meer dan 25% bedragen (<35% voor het laagste punt).

- indien bij validatie gebleken is dat er geen lineair maar een kwadratisch verband is tussen concentratie en respons, dan kan een kwadratische curve gebruikt worden voor de kalibratie. Daartoe worden aan het begin van de meetreeks minimaal 5 kalibratieoplossingen geanalyseerd met concentraties verspreid over het meetgebied. De laagste concentratie mag niet hoger zijn dan 2 keer de ondergrens van het meetbereik. Vervolgens wordt dmv kwadratische curve fitting de vergelijking van de curve berekend. Daarbij mag maximum 1 punt verwijderd worden en er dienen minstens 5 punten (verschillend van de oorsprong) behouden te worden. Indien het laagste punt weggelaten wordt dient de rapportagegrens aangepast te worden. Indien het hoogste punt weggelaten wordt, wordt het meetbereik bovenaan ingeperkt. De afwijking van elk punt tot de curve mag niet meer dan 10% bedragen. Het laagste punt mag 15% afwijken. Als de kalibratiestandaarden de staalopwerking doorlopen mogen de punten 15% afwijken en het laagste punt 25%.

- bij alle kalibraties behalve ahv RRF en 'bracketing' dient bijkomend de drift tijdens de meetreeks gecontroleerd te worden. Daartoe wordt in geval van kalibratierechte één van de kalibratieoplossingen geïnjecteerd, in geval van een kwadratische curve worden 2 kalibratieoplossingen geïnjecteerd waarvan 1 met een concentratie gelegen in het hoogste derde van de curve. De driftcontrole gebeurt minstens op het einde van de meetreeks en verder om de maximum 15 stalen. Voor meetreeksen die langer dan 24 uur duren dient bovendien minstens 1 driftcontrole te gebeuren om de 24 uur. De gemeten concentratie in de driftcontrole mag maximum ~~15%~~ 20% (voor meting met FID maximum 10%) afwijken van de werkelijke concentratie. Als de kalibratiestandaarden de staalopwerking doorlopen mag de gemeten concentratie maximum 20% afwijken van de werkelijke concentratie.

(3) Controle op de gevoeligheid

Minstens bij het einde van elke meetreeks dient de toestelgevoeligheid gecontroleerd te worden. Het toestel moet voldoende gevoelig zijn en blijven om de rapportagegrens te kunnen halen.

(4) Procedureblanco

Bij elke reeks staalopwerkingen wordt een procedureblanco meegenomen. Indien meerdere reeksen per dag opgewerkt worden dan volstaat 1 procedureblanco. De procedureblanco doorloopt de volledige staalopwerking.

Opmerkingen :

- een staalopwerkingsreeks duurt maximum 24 uur, waarmee bedoeld wordt dat met de staalopwerking van alle stalen een aanvang genomen wordt binnen de 24 uur. Onder staalopwerking wordt verstaan : extractie, verzeping etc. Voorbereidende stappen (bv. mengen met droogmiddel, conservering, deelmonsternamen etc.) worden hiervoor niet tot de staalopwerking gerekend.

- Indien binnen eenzelfde staalopwerkingsreeks verschillende matrices opgewerkt worden voor dezelfde parameters maar elk met hun eigen methode (bv. PLE-extractie voor vaste stalen en vloeistof/vloeistof-extractie voor waterstalen) dan dient voor elke methode een procedureblanco meegenomen te worden.

Het geregistreerde chromatogram dient vrij te zijn van interfererende pieken groter dan 10% van de pieken geregistreerd voor het monster met uitzondering van monsterwaarden kleiner dan 5 maal de gehanteerde rapporteergrens, waarvoor de interfererende pieken niet groter mogen zijn dan de helft van de gehanteerde rapporteergrens.

(5) Terugvinding van de interne standaarden en surrogaatverbindingen

De terugvindingseisen van de interne standaarden en surrogaatverbindingen zijn afhankelijk van de parameter, zie het overzicht in tabel 1. Indien de terugvinding van de interne standaard lager ligt dan de ondergrens in tabel 1 maar hoger is dan 20% mogen de resultaten gerapporteerd worden mits een opmerking op het analyseverslag (behalve als het resultaat kleiner is dan de rapportagegrens, of indien voldoende is aangetoond voor het onderzochte type water dat de lage terugvinding geen invloed heeft op het resultaat, dan is de opmerking op het verslag niet nodig). Als de terugvinding van de interne standaard lager ligt dan 20% (10% voor de PFAS interne standaarden 13C-8:2 diPAP en 13C-PFHxDA) mag geen kwantitatief resultaat gerapporteerd worden. Merk op dat in geval van verdunning van het extract de terugvinding van de interne standaard teruggerekend moet worden naar het oorspronkelijk extract.

(6) Controlestaal

Bij elke reeks staalopwerkingen wordt 1 controlestaal meegenomen. Indien meerdere reeksen per dag opgewerkt worden dan volstaat 1 controlestaal per dag.

Als controlestaal wordt een gedopeerd waterstaal gebruikt. Alle componenten die in de stalen gerapporteerd worden dienen toegevoegd te worden aan het controlestaal.

De matrix die gedopeerd wordt kan een reëel staal zijn, of blancowater (bij analyse van grondwater en drinkwater). Ook mogen synthetische matrices gebruikt worden (cfr. ASTM D5905-98 voor de aanmaak van synthetisch afvalwater en NVN-6419 voor synthetisch grondwater en oppervlaktewater). Alle representatieve matrices dienen in de loop der tijd aan bod te komen.

De terugvinding van alle componenten dient tussen 70% en 130% te liggen. Van een minimum aantal componenten (tabel 2) wordt de gemeten concentratie of de terugvinding bijgehouden op een controlekaart met statistische grenzen. De gekozen componenten dienen representatief te zijn voor de gemeten componenten (qua retentietijd, type verbinding, etc).

(7) Onafhankelijke controlestandaard

De juistheid van de kalibratieoplossingen dient regelmatig (minstens om de 3 meetreeksen) gecontroleerd te worden. Hiervoor wordt na de kalibratie een controlestandaard gemeten die onafhankelijk is van de kalibratieoplossingen. Minstens 1/3 van de componenten die in de stalen gerapporteerd worden en die representatief zijn voor het geheel van de gemeten componenten (qua type en retentietijd) dienen aanwezig te zijn in de controlestandaard. De gemeten concentraties mogen niet meer dan 20% afwijken van de reële concentraties. Als de standaarden de staalopwerking doorlopen, mag de gemeten concentratie in de onafhankelijke controlestandaard maximum 30% afwijken van de werkelijke concentratie.

(8) Criteria voor identificatie : retentietijd en ionenratio's

Retentietijd

Voor een positieve identificatie van een onderzochte component in een staal dient zijn retentietijd van het kwantificeringsion binnen bepaalde grenzen overeen te komen met deze in de kalibratiestandaard. De andere diagnostische ionen dienen samen te vallen met het kwantificeringsion.

Voor een GC-meting bedraagt de afwijking van de relatieve retentietijd van een component maximum 5 seconden.

Voor een LC-meting bedraagt de afwijking van de relatieve retentietijd van een component in geval van isotoopdilutie (dus de isotoopgemerkte variant van de component wordt als interne standaard gebruikt) maximum 2.5% t.o.v. de retentietijd in de kalibratiestandaard. Als de interne standaard een andere isotoopgemerkte verbinding betreft dan de natieve component die gemeten dient te worden mag de afwijking van de relatieve retentietijd maximum 5% bedragen.

Ionenratio's

Voor analyse met MS (full scan en SIM), HRMS en MS/MS dienen een minimum aantal diagnostische ionen gemeten te worden. Dit aantal wordt gespecificeerd in de individuele analyseprocedures.

Bij de keuze van diagnostisch ion wordt rekening gehouden met volgende principes:

- een ion met een hoge massa (m/z) is te verkiezen boven een ion met een lage massa
- bij voorkeur ionen met een even massa (m/z)
- indien mogelijk wordt het moleculair ion gebruikt als diagnostisch ion
- diagnostische ionen hebben bij voorkeur een intensiteit van minstens 15% t.o.v. de grootste (meest intense) massa
- indien isotoopclusters aanwezig zijn (bvb. chloor) worden bij voorkeur 2 ionen van dezelfde cluster genomen

Voor een positieve identificatie dienen de ionenratio's van een onderzochte component in een staal binnen bepaalde grenzen overeen te komen met deze in de kalibratiestandaard. De ionenratio is gedefinieerd als :

- in geval van MS-meting : de piekoppervlakte van het diagnostisch ion gedeeld door de piekoppervlakte van het meest intense diagnostisch ion, maal 100 %
- in geval van MS/MS : de piekoppervlakte van dochterion gedeeld door de piekoppervlakte van het meest intense dochterion, maal 100 %.

De afwijking t.o. v. kalibratiestandaard is gedefinieerd als :

- het verschil van de ionenratio in de kalibratiestandaard en de ionenratio in het staal, gedeeld door de ionenratio in de kalibratiestandaard, maal 100 %.

De maximale afwijking van de ionenratio's t.o.v. deze in de kalibratiestandaard zijn weergegeven in tabel 3.

Opmerking : voor pieken in de buurt van de bepalingsgrens (1 tot 3 keer de bepalingsgrens) mag de afwijking groter zijn, de beoordeling gebeurt ahv 'expert judgement'.

4 KWALITEITSEISEN VOOR DE BACTERIOLOGISCHE PARAMETERS (WAC DEEL V)

4.1 EERSTELIJNSCONTROLE

4.1.1 Blanco controle totaal kiemgetal

YEA plaat bij 22°C en YEA plaat bij 36°C inzetten. Indien verdunningen van een monster zijn uitgevoerd, bijkomend YEA + 1 ml verdunningsoplossing telkens bij 22°C en bij 36°C incuberen. Deze controles lopen gelijktijdig met de analyses van monsters en worden in dezelfde omstandigheden geïncubeerd en afgelezen.

4.1.2 Blanco controle overige parameters

- Coliformen & *E.coli*
- Enterokokken
- Coagulase positieve Staphylokokken
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Clostridium perfringens*
- *Salmonella spp.*
- *Legionella species*; *Legionella pneumophila*

Indien de membraanfiltratiemethode wordt toegepast, wordt voor elke parameter een blanco controle uitgevoerd door een volume van 100 ml verdunningsoplossing of steriel water te filtreren en de filter op de respectievelijke selectieve agarplaten aan te brengen. Deze controles lopen gelijktijdig met de analyse van monsters en worden in dezelfde omstandigheden geïncubeerd en afgelezen.

Voor *Salmonella* en *Legionella* worden de blanco's gedurende alle stappen van de volledige analysemethode meegenomen maar dienen ze slechts op één selectieve plaat (*Salmonella*: XLD of chromogeen medium / *Legionella*: BCYE + AB of GVPC of MWY) gecontroleerd te worden.

Voor de quanti-tray MPN methode dient een aangepaste procedureblanco uitgevoerd te worden.

4.1.3 Frequentie en criteria voor blanco controle

Voor totaal kiemgetal worden bij elke reeks opwerkingen van monsters de onder 4.1.1. beschreven blanco's meegenomen. Indien meerdere reeksen per dag worden opgewerkt dan volstaat één blanco controle, op voorwaarde dat alle uitvoerders regelmatig aan bod komen bij de blanco controles.

Voor de overige parameters wordt de onder 4.1.2. beschreven blanco controle minimaal wekelijks uitgevoerd. Ook in dit geval dienen alle uitvoerders regelmatig bij de blanco controles aan bod komen.

Het maximale criterium voor de blanco controle is voor:

- totaal kiemgetal ≤ 1 kve/ml
- *Legionella spp.* < rapportagegrens
- andere presumptieve parameters < 1 kve /100 ml

Een iets hogere blancowaarde voor totaal kiemgetal is aanvaardbaar voor monsters met hoog kiemgetal mits motivatie.

4.1.4 Positieve controle in geval van aangekochte kant-en-klare media met kwaliteitscertificaat

Voor de positieve controle kan deels gebruik gemaakt worden van het kwaliteitscertificaat voor het betreffende lot kant-en-klaar voedingsmedium dat ter beschikking gesteld wordt door de producent en waarop de groei wordt geëvalueerd van relevante referentiestammen.

Bijkomend dient het laboratorium zelf minimaal volgende kwantitatieve positieve controles uit te voeren:

- ✓ indien erkend voor pakket W.8.1, W.8.2, W.8.4 of W.8.6: minstens één regelmatig geanalyseerd indicator organisme testen;
- ✓ indien erkend voor pakket W.8.3: een *Legionella pneumophila* testen;
- ✓ indien erkend voor pakket W.8.5: een *Clostridium perfringens* stam testen.

De resultaten van de door het laboratorium uitgevoerde kwantitatieve positieve controles worden geregistreerd en geëvalueerd met behulp van statistische controlekaarten, na log 10 transformatie. Voor *Salmonella spp.* dient een kwantitatieve positieve controle op een niveau in de buurt van de detectielimiet te worden meegenomen.

De minimale frequentie kwantitatieve positieve controle is als volgt:

- indien betreffende parameter (indicator parameter, *Legionella pneumophila*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella spp.*) dagelijks of meerdere malen per week wordt uitgevoerd: tweewekelijks een positieve controle testen;
- indien betreffende parameter wekelijks wordt uitgevoerd: maandelijks een positieve controle testen;
- indien betreffende parameter maandelijks wordt uitgevoerd: tweemaandelijks een positieve controle testen;
- indien betreffende parameter minder frequent dan maandelijks wordt uitgevoerd: elke analysedag een positieve controle testen.

Bijkomend dient steeds een kwantitatieve positieve controle uitgevoerd te worden bij overschakeling naar ofwel media ofwel filters van een andere producent.

4.1.5 Positieve controle in geval van zelf bereide media

Op elk zelf bereid lot van een bepaald voedingsmedium wordt een kwantitatieve positieve controle uitgevoerd vóór het lot in gebruik wordt genomen.

Bijkomend gelden dezelfde minimaal uit te voeren kwantitatieve positieve controles en frequentie als beschreven in 4.1.4.

4.1.6 pH controle

Indien het laboratorium zelf voedingsmedia bereidt dient het een pH controlemeting uit te voeren telkens een nieuwe batch worden bereid. Wanneer de pH niet tussen de opgegeven waarden van de producent valt, mag het medium niet (meer) gebruikt worden. Voor commerciële media voldoet het certificaat van de producent.

4.1.7 Opvolging van afwijkende controles

Indien de resultaten van de positieve controlemonsters niet aan de vooropgestelde criteria voldoen, of de blanco controle een positief resultaat geeft, dient een analyse van de oorzaak en reikwijdte uitgevoerd te worden. Indien hieruit blijkt dat bepaalde resultaten onbetrouwbaar zijn mogen deze niet gerapporteerd worden en dient een herbemonstering te worden uitgevoerd. Indien van toepassing dient ook de impact op eerder gerapporteerde resultaten te worden nagegaan.

4.2 TWEDELIJNSCONTROLE

Indien de derdelijnscontrole niet alle types water omvat, dient een tweedelijnscontrole programma te worden uitgevoerd. Bij voorkeur gebeurt dit door reële positieve monsters door twee uitvoerders te laten analyseren. Indien er geen reële positieve monsters beschikbaar zijn, mag een blanco monster op een relevant niveau beënt worden.

Minimaal dient binnen een termijn van drie jaar elke parameter aan bod te komen in elke matrix waarvoor de erkenning voorzien is.

4.3 DERDELIJNSCONTROLE

Een erkend laboratorium neemt deel aan de ORKA&BACIL ringtesten georganiseerd door VITO in opdracht van het Departement Omgeving.

5 REFERENTIES

- ISO/NP 21253-1, 2019 : Water Quality – Multi-compound class methods Part 1 – **Guidance** Criteria for the identification of target compounds by gas and liquid chromatography and mass spectrometry
- NBN EN ISO 11133, 2014: Microbiologie van voedingsmiddelen, diervoeders en water - Bereiding, productie, bewaring en bepaling prestatiekenmerken van kweekmedia / ISO 11133, 2014 Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media
- NEN-EN-ISO 11133:2014-11/A1:2018 en / ISO 11133:2014/Amd 1:2018

Tabel 1 : Eisen aan terugvinding van interne standaarden en surrogaten

Methode	Terugvindingseisen voor de interne standaarden en surrogaten
Fenolen (WAC/IV/A/001)	IS : 50%-130% (*)
PAK (WAC/IV/A/002) – meting met MS	IS : 50%-130% (behalve D8-naftaleen : 40%-130%)
PAK (WAC/IV/A/002) – meting met HPLC-UV/FLUO	Surrogaat : 70%-130% (behalve grondwater : 75%-125%) / On-line SPE : matrixadditie 16 PAK 75-125%
OPP en Triazines (WAC/IV/A/010)	40%-130% voor 13C-atrazine 50%-130% voor 13C-HCB
PFAS (WAC/IV/A/025)	IS 30%-200% (behalve 13C-8:2 diPAP en 13C-PFHxDA: 10%-200%)
VOC (WAC/IV/A/016)	IS 50%-150% (berekend tov gemiddelde van de kalibratiestandaarden)
OCP, PCB en hogere CBz (WAC/IV/A/015)	IS 50%-130% (behalve isotoopgemerkte OCP : 50%-150% en isotoopgemerkt trichloorbenzeen : 40-130%) / Surr 80%-120% (ECD)
Minerale Olie (WAC/IV/B/025)	IS 50%-150% (berekend tov gemiddelde van de kalibratiestandaarden)
Ftalaten (WAC/IV/A/004)	IS : 50%-130%
Ftalaten (WAC/IV/A/008)	IS: 50%-150% (behalve D4-DMP: 10-50%)
Octyl- en nonylfenol, bisfenol A (WAC/IV/A/005)	IS : 50%-130% (**)
Kationische surfactanten (WAC/IV/A/022)	nvt (externe standaardmethode)
Pesticiden GC (WAC/IV/A/028)	IS : 50%-130%
Pesticiden LC (WAC/IV/A/027)	IS en Surr.: 50%-140% (***)
BFR (WAC/IV/A/030)	IS : 30%-130% (****)

(*) indien de werkwijze met dubbelde derivatisering toegepast wordt, worden geen eisen gesteld aan de terugvinding van de interne standaard

(**) verminderde terugvinding is het gevolg van ionisatiesuppressie door coëlutie met matrix componenten. De storende invloed van de matrix kan gereduceerd worden door het toepassen van een monsterzuivering a.h.v. vaste fase extractie (zie bv. ISO 24293:2009). Alternatief kan het extract verdund worden.

(***) bij de berekening van de terugvinding wordt rekening gehouden met de terugvinding bekomen bij de validatie, zie WAC/IV/A/027)

(****) voor 13C-BDE-209, 13C-DBDPE en 13C-HBCD wordt vastgesteld dat de respons toeneemt met toenemende concentratie aan natieve verbinding. Voor 13C-BDE-209, 13C-DBDPE en 13C-HBCD zijn terugvindingen hoger dan 130% dus mogelijk maar in dat geval dient geëvalueerd te worden of de verhoogde terugvinding een gevolg is van de aanwezigheid van natieve verbinding in het monster dan wel veroorzaakt wordt door interferentie.

Tabel 2 : Minimum aantal componenten dat op controlekaart genoteerd dient te worden

Methode	Minimaal aantal componenten
Fenolen (WAC/IV/A/001)	2 Alkylfenolen, 2 Chloorfenolen
PAK (WAC/IV/A/002)	4 (inclusief naftaleen)
OPP en Triazines (WAC/IV/A/010)	4 OPP, 3 triazines
PFAS (WAC/IV/A/025)	7 (PFBA, PFOA lineair, PFHxDA, PFBS, PFOS lineair, 6:2 FTS en EtFOSAA)
VOC (WAC/IV/A/016)	10 (benzeen, toluen, een isomeer van xyleen, isomeer van trimethylbenzeen, 1,1-dichloorethaan, chloroform, trichloorethyleen, tetrachloorethyleen, monochloorbenzeen en een isomeer van dichloorbenzeen)
OCP, PCB en hogere CBz (WAC/IV/A/015)	3 OCP, 2 PCB, 1 CBz
Minerale Olie (WAC/IV/B/025)	1 (Minerale olie)
Ftalaten (WAC/IV/A/004 en WAC/IV/A/008)	3
Nonylfenol (WAC/IV/A/005)	2
Kationische surfactanten (WAC/IV/A/022)	2
Pesticiden GC (WAC/IV/A/028)	7
Pesticiden LC (WAC/IV/A/027)	3
BFR (WAC/IV/A/030)	3

Tabel 3 : Maximale afwijking van de ionenratio's

Ionenratio	Max. afwijking EI-GC-MS	Max. afwijking CI-GC-MS, GC-MS/MS, LC-MS, LC-MS/MS
>50%	+ - 10 %	+ - 30 %
>20% - 50%	+ - 15 %	+ - 30 %
>10% - 20%	+ - 20 %	+ - 30 %
<10%	+ - 50 %	+ - 50 %

Voorwaarden voor rapportering van monsternamegegevens en analyseresultaten door een erkend laboratorium

INHOUD

1	Doel en toepassingsgebied	3
2	Definities	3
3	Principes	4
4	Rapportering van de gegevens van de opdracht	5
4.1	<i>Omschrijving monster</i>	5
4.2	<i>Toetsingskader</i>	5
5	Rapportering van de monsternamegegevens	6
5.1	<i>Minimale gegevens m.b.t. de monstername</i>	6
5.2	<i>Erkenningslogo VLAREL en verwijzing naar de erkenningsstatus voor monsternemingen</i>	7
5.3	<i>Gebruik van opmerkingen m.b.t. de monstername</i>	7
6	Rapportering over kritische termijnen in het analyseproces	8
6.1	<i>Minimale gegevens</i>	8
6.2	<i>Omgang met de voorgeschreven houdbaarheidstermijnen van monsters</i>	8
6.3	<i>Gebruik van opmerkingen m.b.t. de kritische termijnen</i>	9
7	Rapportering van de analyseresultaten en informatie m.b.t. de toegepaste methode	9
7.1	<i>Minimale gegevens</i>	9
7.2	<i>Erkenningslogo VLAREL en verwijzing naar de erkenningsstatus per parameter</i>	10
7.3	<i>Berekening van somgehalten of verschilgehalten</i>	10
7.4	<i>Gebruik van opmerkingen op analyseverslagen</i>	11
8	Rapportering in geval van (gedeeltelijke) uitbesteding	12

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure vervangt de procedure WAC/VI/A/004 van november 2015.

Deze procedure schrijft voor hoe laboratoria, die erkend zijn in het Vlaamse Gewest volgens het VLAREL of over een nog geldende erkenning beschikken volgens eerdere regelgeving, monsternamegegevens en analyseresultaten dienen te rapporteren, van opdrachten uitgevoerd in de hoedanigheid van erkend laboratorium.

Het doel van deze procedure is het vastleggen van uniforme vereisten voor de rapportering. De voorwaarden in deze procedure zijn te beschouwen als minimale vereisten, die voorrang hebben op eventuele bilaterale afspraken tussen het erkende laboratorium en zijn opdrachtgever, tenzij de bevoegde overheid anders bepaalt.

Het toepassingsgebied van deze procedure omvat alle laboratoria die erkend zijn in het Vlaamse Gewest voor één of meer van de volgende disciplines: water; lucht; mest; diervoeder; bodem; afvalstoffen en andere materialen. Inhoudelijk heeft deze procedure zowel betrekking op monsternames als analyses, voor zover hiervoor de erkenning van laboratoria voorzien is.

De ISO/IEC 17025 norm, die algemene eisen bevat voor de bekwaamheid van laboratoria en door de erkende laboratoria dient toegepast te worden, bevat reeds eisen m.b.t. de rapportering maar deze zijn eerder algemeen geformuleerd en onvoldoende toegespitst op de typische problematiek van milieuanalyses (bv. beperkte houdbaarheid van monsters, ...). Eisen in de ISO/IEC 17025 norm in verband met rapportering, die niet expliciet in deze procedure zijn opgenomen, blijven voor de erkende laboratoria onverminderd van toepassing. Dit geldt ook voor instructies m.b.t. rapportering die van toepassing zijn voor een specifieke discipline (evt. deeldomein), bv.

- Code van Goede Praktijk Bodembescherming (zie <http://www.emis.vito.be/lne-erkenningen-bodem> - meest recente versie);
- Methodes BAM/deel n/20 m.b.t. rapportering (zie <http://www.emis.vito.be/referentielabo-vlm>);
- Ministerieel besluit van 19 maart 2004 houdende vaststelling van de lijst van ammoniakemissiearme stalsystemen (zie <http://navigator.emis.vito.be>).

Deze procedure geldt zowel voor rapportering via papier als via een elektronisch bestand. Bij gebruik van een elektronisch bestand dient dit aan alle vereisten van deze procedure te voldoen; zoniet moet steeds een klassiek analyseverslag op papier, dat aan alle vereisten van deze procedure voldoet, nagestuurd worden.

Bepalingen die weergegeven worden tussen vierkante haken [] behoren niet strikt tot deze procedure maar worden ter verduidelijking toegevoegd.

2 DEFINITIES

Voor de toepassing van deze procedure wordt verstaan onder:

1° VLAREL: besluit van de Vlaamse Regering van 19 november 2010 tot vaststelling van het Vlaams reglement inzake erkenningen met betrekking tot het leefmilieu

2° 'fit for purpose': geschikt voor gebruik binnen de context die door de opdrachtgever is vooropgesteld (bv. specifieke behoeften) of die geacht mag worden gekend te zijn door een erkend laboratorium (bv. geldende regelgeving)

3° erkend laboratorium: laboratorium, erkend door het Vlaamse Gewest, dat in overeenstemming met de bepalingen in het VLAREL monsternemingen, metingen, analyses of beproevingen uitvoert

4° opdrachtnemer: erkend laboratorium waarmee de opdrachtgever een contractuele relatie heeft

5° eindverslag: het analyseverslag dat de opdrachtgever ontvangt vanwege de opdrachtnemer

6° rapportagegrens: de waarde beneden welke een component als niet kwantificeerbaar ('<') wordt gerapporteerd; deze bedraagt minimaal de bepalingsgrens, tenzij anders is vastgelegd in de van toepassing zijnde regelgeving

3 PRINCIPES

Bij het vastleggen van de voorwaarden voor rapportering werd uitgegaan van volgende basisprincipes:

- de door een erkend laboratorium gerapporteerde monsternamegegevens en analyseresultaten moeten 'fit for purpose' zijn, m.a.w. geschikt voor gebruik binnen een vooropgestelde context;
- het erkende laboratorium moet deze 'fit for purpose' monsternamegegevens en analyseresultaten op een zo efficiënt mogelijke wijze kunnen bekomen.

Om dit waar te kunnen maken is het van essentieel belang dat doorheen het volledige analyseproces in zijn breedste betekenis - van het definiëren van de behoefte aan analyses door de opdrachtgever tot en met de rapportering van de resultaten door de opdrachtnemer, d.i. het erkende laboratorium aan wie de opdracht werd toevertrouwd - voldoende overleg gebeurt en duidelijke afspraken gemaakt worden.

Zowel de opdrachtgevers als de erkende laboratoria dragen een deel van de verantwoordelijkheid om op een efficiënte wijze 'fit for purpose' analyseresultaten te kunnen bekomen.

Een erkend laboratorium mag van de opdrachtgever verwachten - en zal de opdrachtgever zo nodig vragen - dat deze:

- de context van de analyseopdracht (aard van het monster, doel) in een zo vroeg mogelijk stadium communiceert naar het laboratorium;
- de analyseopdracht tijdig bevestigt, d.i. uiterlijk bij de monstername (indien deze uitgevoerd wordt door het laboratorium) of bij de aflevering van het monster aan het laboratorium;
- specifieke eisen zoveel mogelijk afstemt op de eisen m.b.t. het gebruik van de erkenning waaraan de laboratoria onderworpen zijn via het VLAREL (bv. het verplicht toepassen van de compendiummethode indien beschikbaar, ...).

Cruciaal is hierbij dat de opdrachtgever de aard van het monster correct aangeeft, evenals de doelstellingen in het kader waarvan de analyse gebeurt.

Van de opdrachtnemer en desgevallend de overige erkende laboratoria die bij de uitvoering van de opdracht betrokken zijn, wordt verwacht dat deze:

- de opdrachtgever zo nodig ondersteunen bij het definiëren van een monstername- en/of analyseopdracht die overeenstemt met de van toepassing zijnde regelgeving;
- over de nodige organisatie/voorzieningen beschikken om de houdbaarheid van monsters te respecteren;

- het nodige analytisch werk uitvoeren tot een 'fit for purpose' resultaat beschikbaar is, ook als dit een bijkomende meting/analyse vergt;
- de eigen organisatie/methodes optimaliseren met het oog op een minimaal gebruik van opmerkingen op monstername- en analyseverslagen.

De eindverantwoordelijkheid voor het juist formuleren van het uit te voeren onderzoek en het aangeven van de van toepassing zijnde regelgeving ligt bij de opdrachtgever.

De eindverantwoordelijkheid voor de volledige en correcte rapportering conform deze procedure wordt toegewezen aan het erkende laboratorium dat als opdrachtnemer fungeert. Dit kan ofwel het laboratorium zijn dat de monstername uitvoert ofwel het laboratorium dat de metingen/analyses (of tenminste een deel ervan) uitvoert, afhankelijk van met wie de opdrachtgever een contractuele relatie heeft. Indien de opdrachtgever voor een bepaalde opdracht met twee of meer verschillende opdrachtnemers een contractuele relatie aangaat, is elk van deze erkende laboratoria verantwoordelijk voor het eigen deel van de opdracht.

De eindverantwoordelijkheid voor de rapportering houdt de verantwoordelijkheid in voor de nodige afstemming tussen alle betrokken erkende laboratoria: het zorgen voor de nodige afspraken i.v.m. de kritische termijnen in het analyseproces, de beschikbaarheid van een monsternameverslag, ...

Wanneer de monstername door een andere hiervoor bevoegde instantie (bv. inspectiedienst; boorbedrijf onder toezicht van een erkend bodemsaneringsdeskundige; exploitant indien voorzien in de regelgeving; ...) of door de opdrachtgever zelf wordt uitgevoerd, blijft de eindverantwoordelijkheid van het erkende laboratorium beperkt tot het sensibiliseren m.b.t. het naleven van de voorwaarden in deze procedure. In dergelijk geval zal het erkende laboratorium bij de analyseresultaten naar de erkenningsstatus verwijzen, maar niet bij de monsternamegegevens.

4 RAPPORTERING VAN DE GEGEVENS VAN DE OPDRACHT

4.1 OMSCHRIJVING MONSTER

De omschrijving van het monster op het analyseverslag moet coherent zijn met de context van de analyseopdracht en met de karakteristieken van het monster (alleszins de visueel waarneembare karakteristieken). Het erkende laboratorium mag van de opdrachtgever verwachten dat deze de aard van het monster correct omschrijft, evenals de doelstellingen in het kader waarvan de analyse gebeurt. Bij ontvangst van het monster dient het erkende laboratorium wel te verifiëren of de verstrekte gegevens overeenkomen met de aard en het uitzicht van het monster. Bij twijfel of het monster overeenkomt met de omschrijving, of indien vastgesteld wordt dat een monster niet zonder meer kan geanalyseerd worden zoals een normaal monster van het type in de omschrijving (bv. monster bevat meer fasen, ...), dient het erkende laboratorium de opdrachtgever te contacteren om de inconsistenties uit te klaren. De hierbij gemaakte afspraken dienen te worden geregistreerd.

4.2 TOETSINGSKADER

Als dienstverlening naar de opdrachtgever of op expliciet verzoek kan een erkend laboratorium toetsingswaarden opnemen in het analyseverslag. In dat geval dient ook eenduidig aangegeven te worden uit welke regelgeving of ander document deze toetsingswaarden afkomstig zijn.

5 RAPPORTERING VAN DE MONSTERNAMEGEGEVENS

Opmerking: onderstaande voorwaarden zijn enkel van toepassing indien de monstername door een erkend laboratorium uitgevoerd is; dit kan het erkende laboratorium zijn dat ook instaat voor de analyses of een ander erkend laboratorium.

5.1 MINIMALE GEGEVENS M.B.T. DE MONSTERNAME

In het analyseverslag, of in een monsternameverslag dat bij het analyseverslag gevoegd is, dienen minimaal volgende gegevens in verband met de monstername opgenomen te worden:

- datum van monstername;
- uur van monstername in geval het afvalwater, oppervlaktewater, grondwater, lucht of afvalstoffen en andere materialen betreft;
- naam van de monsternemer;
- identificatie (bij voorkeur via GPS-coördinaten) of een gedetailleerde beschrijving van de plaats waar het monster genomen werd, zo nodig met schets en/of foto's als bijlage;
- registratie van de karakteristieken van de meetplaats en, indien van toepassing, aftoetsing ervan naar conformiteit met het compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL;
- in geval van bemonstering van een partij: beschrijving van de bemonsterde partij, inclusief partijafbakening of gemengde partij indien van toepassing; hierbij dienen ook de gemaakte keuzes gemotiveerd te worden;
- verwijzing naar de monsternamemethode, bestaande uit ten minste de code van de van toepassing zijnde compendium- of normmethode en de specificatie van de toegepaste monsternametechniek;
- bijkomende informatie indien de monsternamemethode of de regelgeving dit vereist; bv. voor afvalstoffen en andere materialen: aantal genomen grepen, greepgrootte, aantal en grootte (in liter) van laboratoriummonsters, cfr. CMA/1/A.14;
- indien voor de erkenning als laboratorium in de betreffende discipline meerdere deeldomeinen voorzien zijn: het deeldomein waarop de monstername betrekking heeft.

Indien voor de rapportering van hoger vermelde gegevens gebruik gemaakt wordt van een monsternameverslag, waarvan de gegevens niet overgenomen worden in het analyseverslag, dient in het analyseverslag eenduidig naar dit monsternameverslag te worden verwezen; analyse- en monsternameverslag worden dan beide aan de opdrachtgever bezorgd, gearchiveerd,.....In praktijk kunnen het monsternameverslag en het analyseverslag ook deel uitmaken van een geïntegreerd onderzoeksrapport, dat bv. ook een bespreking van de resultaten en/of technologisch advies bevat.

Indien de monstername is uitgevoerd op vraag van een ander erkend laboratorium dat als opdrachtnemer optreedt, staat het laboratorium dat de monstername uitvoert in voor het ter beschikking stellen van een monsternameverslag dat ten minste de eerder vermelde gegevens bevat, aan het andere laboratorium, en dit uiterlijk bij het aanleveren van de monsters.

De opdrachtnemer die zelf de monstername uitvoert maar voor de analyses, of een deel ervan, beroep doet op een ander erkend laboratorium, hoeft geen volledig monsternameverslag aan dit laboratorium te bezorgen want de opdrachtnemer staat in voor de eindrapportering. In dergelijk geval volstaat het doorgeven van de datum van monstername en desgevallend het deeldomein waarop de monstername betrekking heeft.

Wanneer bij de monstername een bevoegde instantie aanwezig is die bepaalde van de minimale gegevens zelf vastlegt, moet de monsternemer door de vertegenwoordiger van deze bevoegde instantie laten verifiëren of de genoteerde gegevens overeenstemmen.

De naam en het adres van het erkende laboratorium dat de monstername heeft uitgevoerd moeten eenduidig kunnen worden afgeleid uit het analyseverslag, of een monsternameverslag dat bij het analyseverslag gevoegd is, en overeen komen met deze waarop de erkenning is afgeleverd.

5.2 ERKENNINGSLOGO VLAREL EN VERWIJZING NAAR DE ERKENNINGSSTATUS VOOR MONSTERNEMINGEN

Conform art. 49 van het VLAREL dient een erkend laboratorium op het analyseverslag of monsternameverslag het erkenningslogo VLAREL aan te brengen:



Het laboratorium dient bovendien duidelijk te vermelden voor welke monsternemingen het erkend is en voor welke niet. Hiervoor gelden volgende regels:

- bij elke monsternamemethode in een analyse- of monsternameverslag moet duidelijk, via een code/symbool naar keuze, aangegeven worden of deze al dan niet tot het toepassingsgebied van de erkenning van het laboratorium behoort;
- de gebruikte code of het gebruikte symbool moet toegelicht worden, bv. in een voetnoot van het analyse- of monsternameverslag.

Indien voor de erkenning als laboratorium in de betreffende discipline meerdere deeldomeinen voorzien zijn, dient hiermee rekening gehouden te worden bij de verwijzing naar de erkenningsstatus.

Voor de verwijzing naar de erkenningsstatus voor metingen, beproevingen en analyses wordt verwezen naar punt 7.2.

5.3 GEBRUIK VAN OPMERKINGEN M.B.T. DE MONSTERNAME

In de volgende gevallen is een opmerking op het monstername- of analyseverslag noodzakelijk:

- a) *indien, op vraag van de opdrachtgever, de monstername **niet volledig conform** het compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL werd uitgevoerd.*

In dit geval moet duidelijk aangegeven worden dat het een afwijking op vraag van de opdrachtgever betreft; verder moet gespecificeerd worden op welke punten werd afgeweken van het compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL. Indien de

opdrachtgever heeft meegedeeld waarom hij de aanpassing noodzakelijk achtte, kan dit eveneens worden vermeld.

- b) indien, **omwille van de plaatselijke omstandigheden**, de monstername **niet volledig conform** het compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL kon worden uitgevoerd.

In dit geval moet gespecificeerd worden op welke punten werd afgeweken van het compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL en omwille van welke plaatselijke omstandigheden dit noodzakelijk was.

Van een erkend laboratorium wordt verwacht dat het eventuele gebreken aan een installatie van de opdrachtgever, die een conforme monstername onmogelijk maken, duidelijk aangeeft. Het remediëren hiervan is de verantwoordelijkheid van de opdrachtgever.

- c) indien **abnormaliteiten m.b.t. de bedrijfsvoering van de te bemonsteren installatie** gemeld werden door de opdrachtgever of vastgesteld werden.

In dit geval moet gespecificeerd worden over welke abnormaliteiten m.b.t. de bedrijfsvoering het gaat en of ze door de opdrachtgever gemeld werden dan wel zelf vastgesteld/bevestigd werden door het erkende laboratorium.

Een erkend laboratorium dient geen uitspraak te doen over het al dan niet gegrond zijn van gemelde abnormaliteiten of over de impact die de abnormaliteiten kunnen gehad hebben op de representativiteit van de monstername.

In het volgende geval is een opmerking op het analyseverslag noodzakelijk:

- d) indien bij ontvangst in het analyselaboratorium een monster **niet conform** het compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL blijkt **qua conservering, recipiënt of hoeveelheid**.

In dit geval moet gespecificeerd worden op welke punten niet voldaan was aan de voorschriften van het compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL.

Het vermelden van opmerkingen m.b.t. de monstername mag niet leiden tot het weglaten van de verwijzing naar de erkenning en ontslaat het erkende laboratorium dus niet van de overige vereisten in deze procedure.

6 RAPPORTERING OVER KRITISCHE TERMIJNEN IN HET ANALYSEPROCES

6.1 MINIMALE GEGEVENS

In het analyseverslag dient minimaal de datum van ontvangst van het monster door het laboratorium opgenomen te worden.

6.2 OMGANG MET DE VOORGESCHREVEN HOUDBAARHEIDSTERMIJNEN VAN MONSTERS

Bij de interpretatie van houdbaarheidstermijnen wordt de datum van monstername als dag 0 beschouwd. Indien door het erkende laboratorium een mengmonster dient bereid te worden uit

verschillende aangeleverde monsters, is dag 0 de datum van monstername van het oudste monster. Bij 24 uur-mengmonsters die via een geautomatiseerd systeem gegenereerd worden is er pas sprake van een monster wanneer het volledig samengestelde monster uit het geautomatiseerd systeem wordt genomen.

Daarnaast is, in het kader van de interpretatie van houdbaarheidstermijnen, de datum van de start van de analyse van belang. Bij analyses die een ontsluiting, extractie of andere voorbereidende handeling vereisen is dit normaal de datum waarop voormelde handeling uitgevoerd werd. In de andere gevallen is het de datum waarop het gehalte werd gemeten.

De opdrachtnemer is verantwoordelijk voor het respecteren van de voorgeschreven houdbaarheidstermijn van de monsters voor elke te bepalen parameter. Ingeval de opdrachtgever voor een bepaalde opdracht met twee of meer verschillende opdrachtnemers een contractuele relatie aangaat, is elk van deze erkende laboratoria verantwoordelijk voor het eigen deel van de opdracht.

[Van een erkend laboratorium dat eindverantwoordelijke is voor de rapportering wordt verwacht dat het per parameter(groep) monitort hoe vaak de houdbaarheidstermijn wordt overschreden en dat het gebruik maakt van de resultaten van deze monitoring bij de continue verbetering van zijn processen of organisatie in het kader van het ISO/IEC 17025 kwaliteitssysteem.]

6.3 GEBRUIK VAN OPMERKINGEN M.B.T. DE KRITISCHE TERMIJNEN

In de volgende gevallen is een opmerking op het analyseverslag noodzakelijk:

- a) indien de **houdbaarheidstermijn van het monster** voor een bepaalde parameter(groep) werd **overschreden**

In dit geval moet duidelijk aangegeven worden welke parameter(groep) het betreft.

Het laboratorium moet op verzoek aan de opdrachtgever meedelen of de overschrijding te wijten is aan het laboratorium zelf, het voorafgaand traject (= het laattijdig bezorgen van het monster of de analyseopdracht) of een combinatie van beide.

- b) indien de **datum van monstername niet gekend** is door het laboratorium dat het analyseverslag opstelt.

In dit geval dient duidelijk aangegeven te worden dat de monsternamedatum niet werd doorgegeven aan het laboratorium en dat hierdoor de uitvoering van de analyses binnen de voorgeschreven houdbaarheidstermijnen niet kon gegarandeerd worden.

7 RAPPORTERING VAN DE ANALYSERESULTATEN EN INFORMATIE M.B.T. DE TOEGEPASTE METHODE

7.1 MINIMALE GEGEVENS

In het analyseverslag dienen minimaal volgende gegevens in verband met de analytische resultaten en methoden opgenomen te worden:

- het analyseresultaat en de eenheid waarin dit uitgedrukt is;

- een verwijzing naar de toegepaste ontsluitings-, uitlogings- en analysemethode;
- bijkomende informatie indien de analysemethode of de regelgeving dit vereist;
- relevante afwijkingen of toelichting bij de analyse.

De eenheid waarin het - finale - analyseresultaat uitgedrukt wordt dient in overeenstemming te zijn met het toetsingskader. Ook de naamgeving van de parameters dient zoveel mogelijk afgestemd te worden op de regelgeving.

De verwijzing naar de ontsluitings-, uitlogings- en analysemethode, zoals opgenomen in het analyseverslag, dient tenminste de code van de van toepassing zijnde compendiummethode of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL te bevatten.

Onder relevante afwijkingen of toelichting bij de analyse wordt alle bijkomende informatie verstaan die noodzakelijk is voor een correcte interpretatie van de analyseresultaten door de opdrachtgever en een eventuele eindgebruiker. Zie ook verder punt 7.4 Gebruik van opmerkingen op analyseverslagen.

De naam en het adres van het erkende laboratorium dat de analyse heeft uitgevoerd moeten eenduidig kunnen worden afgeleid uit het analyseverslag en overeen komen met deze waarop de erkenning is afgeleverd.

7.2 ERKENNINGSLOGO VLAREL EN VERWIJZING NAAR DE ERKENNINGSSTATUS PER PARAMETER

Conform art. 49 van het VLAREL dient een erkend laboratorium op het analyseverslag het erkenningslogo VLAREL aan te brengen:



Het laboratorium dient bovendien duidelijk te vermelden voor welke metingen, beproevingen en analyses het erkend is en voor welke niet. Hiervoor gelden volgende regels:

- bij elk gerapporteerd analyseresultaat moet duidelijk, via een code/symbool naar keuze, aangegeven worden of het al dan niet tot het toepassingsgebied van de erkenning van het laboratorium behoort;
- de gebruikte code of het gebruikte symbool moet toegelicht worden, bv. in een voetnoot van het analyseverslag.

Indien voor de erkenning als laboratorium in de betreffende discipline meerdere deeldomeinen voorzien zijn, dient hiermee rekening gehouden te worden bij de verwijzing naar de erkenningsstatus.

Voor de verwijzing naar de erkenningsstatus voor monsternemingen wordt verwezen naar punt 5.2.

7.3 BEREKENING VAN SOMGEHALTEN OF VERSCHILGEHALTEN

Indien voor de berekening van somgehalten of verschilgehalten een werkwijze is vastgelegd in de betreffende regelgeving, het betreffende compendium of de andere vereiste methode volgens art.

45 van het VLAREL dient deze werkwijze toegepast te worden. **Indien geen werkwijze vastgelegd is wordt het "lower bound" principe toegepast.**

7.4 GEBRUIK VAN OPMERKINGEN OP ANALYSEVERSLAGEN

In de volgende gevallen is een opmerking op het analyseverslag noodzakelijk:

- a) *indien **geen resultaat** bekomen kon worden **of** indien het een component betreft die volgens het compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL **enkel indicatief of semikwantitatief** bepaald kon worden.*

In dit geval wordt, respectievelijk ter vervanging of ter verduidelijking van het resultaat, een symbool naar keuze gebruikt. Dit symbool dient toegelicht te worden via een voetnoot of opmerking op het analyseverslag.

Een rapportagegrens in het resultaatveld wordt beschouwd als een resultaat; een opmerking is dan enkel noodzakelijk indien een te hoge (d.i. een hogere dan volgens de regelgeving vereiste) rapportagegrens wordt doorgegeven (zie punt c)). Ook '>' waarden worden beschouwd als een resultaat, doch het gebruik hiervan is enkel toegelaten indien dit expliciet vermeld wordt in het compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL (bv. bij bepaling BZV in water).

Het laboratorium dient op verzoek bijkomende informatie, bv. waarom geen resultaat kon bekomen worden, ter beschikking te stellen aan de opdrachtgever.

- b) *indien een **afwijking bij de kalibratie of kwaliteitscontrole** de 'fitness for purpose' van het resultaat mogelijk in het gedrang brengt en deze afwijking **niet kon weggewerkt worden** via een hermeting/heranalyse met bijkomende voorzorgen cfr. het compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL.*

In dit geval dient de afwijking duidelijk omschreven te worden: op welke parameter(s) heeft ze betrekking, wat wijkt af en in welke richting.

Het laboratorium dient op verzoek bijkomende informatie, zoals de te verwachten impact op het gerapporteerde analyseresultaat (vermoedelijke onderschatting of overschatting, ...) of wat ondernomen is om deze afwijking weg te werken, ter beschikking te stellen aan de opdrachtgever.

[M.b.t. het wegwerken van dergelijke afwijking wordt vooropgesteld dat een 'redelijke' extra inspanning vanwege het erkende laboratorium (= 1 heranalyse) volstaat, mits hierbij voldoende bijkomende technische voorzorgen werden getroffen (bv. toepassing van een bijkomende zuiveringstechniek, gebruik van een aangepaste hoeveelheid monster, ...).

Indien, op het ogenblik dat de afwijking wordt vastgesteld, de houdbaarheidstermijn van het monster reeds verstreken is hoeft geen heranalyse met bijkomende voorzorgen meer opgestart te worden.]

- c) *indien een **hogere dan de volgens de regelgeving of door de klant vereiste rapportagegrens als resultaat wordt doorgegeven.***

In dit geval dient gespecificeerd te worden dat de rapportagegrens werd verhoogd.

Het laboratorium dient op verzoek bijkomende informatie, zoals de reden (verdunding omwille van niet te elimineren matrixeffecten, te hoge blanco waarde, ...) of wat ondernomen is om deze afwijking weg te werken (zie punt b)), ter beschikking te stellen aan de opdrachtgever. [Het verdund inzetten van monsters met het oog op minder matrixeffecten is enkel aanvaardbaar indien dit de 'fitness for purpose' van het analyseresultaat niet in het gedrang brengt. Dit mag bijgevolg geen aanleiding geven tot een te hoge rapportagegrens als resultaat, tenzij wanneer andere technische mogelijkheden om de matrixeffecten te beperken (cfr. compendium of andere vereiste methode) onvoldoende zijn gebleken voor het betreffende monster.

Indien van één of meerdere van de via een specifieke analysemethode te bepalen reeks componenten extreem hoge gehalten in het monster aanwezig zijn, mogen de rapportagegrenzen voor de overige componenten in de regel niet hoger liggen dan de richt- of grenswaarde voor het gehalte van deze componenten volgens de van toepassing zijnde regelgeving.]

- d) indien bij de uitvoering van de monstervoorbehandeling, analyse of bij de berekening van het gehalte **afgeweken** diende te worden **van het compendium** of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL.

In dit geval dient de afwijking duidelijk omschreven te worden, evenals de reden van de afwijking.

- e) indien **somgehalten of verschilgehalten** worden gerapporteerd waarbij minstens één van de componenten een meetwaarde kleiner dan de rapportagegrens ($<RG$) heeft **en** de toe te passen **werkwijze niet vastgelegd** is in de betreffende regelgeving, het betreffende compendium of de andere vereiste methode volgens art. 45 van het VLAREL.

In dat geval wordt het "lower bound" principe toegepast.

~~In dit geval dient duidelijk toegelicht te worden op welke wijze is omgegaan met de $<RG$ meetwaarden.~~

- f) indien **meer dan één resultaat voor een te bepalen parameter** gerapporteerd wordt en deze resultaten significant verschillen, rekening houdend met de context van de analyse.

In dit geval dient het verschil tussen de resultaten nader toegelicht te worden en dient aangegeven te worden welk resultaat het laboratorium het meest betrouwbaar acht.

Het vermelden van opmerkingen m.b.t. houdbaarheidstermijnen (cfr. punt 6.3) of analyses (cfr. punt 7.4) mag niet leiden tot het weglaten van de verwijzing naar de erkenning en ontslaat het erkende laboratorium dus niet van de overige vereisten in deze procedure.

8 RAPPORTERING IN GEVAL VAN (GEDEELTELIJKE) UITBESTEDING

Indien monsternemingen of analyses, welke volgens het VLAREL uitgevoerd dienen te worden door een erkend laboratorium, uitbesteed worden aan een ander erkend laboratorium, gelden volgende richtlijnen voor de rapportering (voor de definitie van de term eindverslag wordt verwezen naar punt 2):

- het monstername- of analyseverslag van het uitvoerend laboratorium wordt integraal als bijlage opgenomen bij het eindverslag, d.w.z. eindverslag en bijhorende bijlagen vormen steeds één geheel;
- bij de erkenningsstatus voor de uitbestede monsternemingen of analyses wordt via een code/symbool naar keuze aangegeven dat het uitbestede verrichtingen betreft; de gebruikte code of het gebruikte symbool moet toegelicht worden, bv. in een voetnoot van het eindverslag;
- de methodeverwijzing voor de uitbestede monsternemingen of analyses in het eindverslag wordt vervangen door de term 'uitbesteed' of door de methodeverwijzing van het uitvoerend laboratorium.

Een opdrachtnemer die een deel van de opdracht uitbesteedt, draagt de eindverantwoordelijkheid voor het geheel, conform de bepalingen van de ISO/IEC 17025 norm, en is dus aansprakelijk voor zowel de correcte overdracht van de monsters naar/vanuit het ander uitvoerend laboratorium als voor de door dit laboratorium verstrekte resultaten/gegevens.