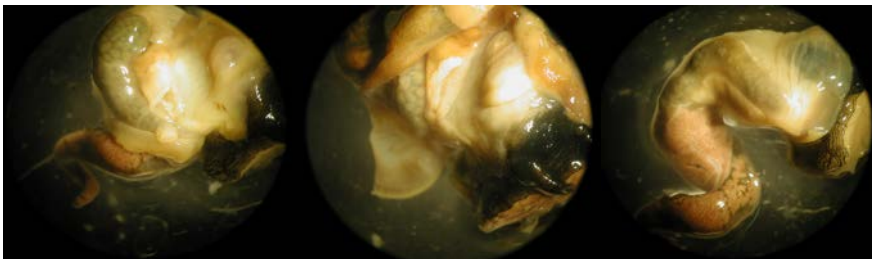


# TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik, de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak langs de Nederlandse kust in 2012

M. Hoek-van Nieuwenhuizen, J. Jol en N.H.B.M. Kaag  
Rapportnummer C112/12



## IMARES Wageningen UR

(IMARES - Institute for Marine Resources & Ecosystem Studies)

Opdrachtgever:

Rijkswaterstaat Waterdienst  
M. van der Weijden  
Postbus 17  
8200 AA Lelystad

Publicatiedatum:

23 januari 2013

**IMARES is:**

- een onafhankelijk, objectief en gezaghebbend instituut dat kennis levert die noodzakelijk is voor integrale duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van de zee en kustzones;
- een instituut dat de benodigde kennis levert voor een geïntegreerde duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van zee en kustzones;
- een belangrijke, proactieve speler in nationale en internationale mariene onderzoeksnetwerken (zoals ICES en EFARO).

IMARES is onderdeel van Stichting DLO  
KvK nr. 09098104,  
IMARES BTW nr. NL 8113.83.696.B16

© 2012 IMARES Wageningen UR

De Directie van IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van IMARES; opdrachtgever vrijwaart IMARES van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets uit dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier gebruikt worden zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

## Inhoudsopgave

Inhoudsopgave.....	3
Samenvatting.....	4
1. Inleiding.....	5
2. Methoden.....	6
2.1 Bemonsteringslocaties.....	6
2.2 Intersex en imposex.....	7
2.3 Chemische analyses.....	9
3. Resultaten.....	10
3.1 Intersex Gewone Alikruiken.....	10
3.2 Imposex Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken.....	11
3.3 Organotin gehalten.....	11
4. Discussie en conclusie.....	13
Kwaliteitsborging.....	15
Referenties.....	16
Verantwoording.....	18
Bijlage 1. Resultaten intersex analyse Gewone Alikruiken.....	19
Bijlage 2. Resultaten imposex analyse Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken.....	20
Bijlage 3. Gehalten aan organotinverbindingen in Gewone alikruiken, Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken 2012 in µg/kg nat gewicht.....	21
Bijlage 4.1 Resultaten referentiematerialen.....	22
Bijlage 4.2 Resultaten ringonderzoek Quasimeme in biota (labcode: Q127A IMARES).....	23
Bijlage 4.3 Rapportagegrenzen en meetonzekerheid.....	25

## Samenvatting

Sinds 2005 analyseert IMARES in opdracht van Rijkswaterstaat (RIKZ, later de Waterdienst) het voorkomen van intersex bij de Gewone Alikruiken (*Littorina littorea*) die op vaste locaties langs de Nederlandse kust verzameld worden. Het doel van dit onderzoek is effecten van verontreiniging met organotinverbindingen vast te stellen.

Gewone Alikruiken zijn in vergelijking met andere gastropoden echter vrij ongevoelig voor TBT. In overleg met de opdrachtgever zijn in 2012 naast de Gewone Alikruiken ook Gevlochten Fuikhoorns (*Nassarius reticulatus*) en Purperslakken (*Nucella lapillus*) verzameld. De Gevlochten Fuikhoorns zijn verzameld tijdens de schelpdierbemonsteringen die IMARES in opdracht van het Ministerie van EL&I uitvoert. Voor de Purperslakken is een aparte bemonstering, speciaal voor dit onderzoek, uitgevoerd. Bij de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak resulteert TBT in imposex verschijnselen, een gevoeliger parameter dan intersex.

Bij de Gewone Alikruik werden op geen van beide onderzochte locaties (Waddenzee kustzone Oost en West) intersex verschijnselen aangetroffen.

Zowel bij de Gevlochten Fuikhoorn als bij de Purperslak werden op alle onderzochte locaties enkele vrouwtjes met lichte verschijnselen van imposex aangetroffen (stadium 1a). Dit resulteerde in VDSI waarden tussen 0.04 (Oosterschelde kustzone) en 0.19 (HARVKZNE).

Op de locatie Westerschelde kustzone zijn geen slakken aangetroffen.

De gevonden VDSI waarden zijn lager dan in de voorgaande jaren. Op basis van de imposex-resultaten bij de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak, vallen alle onderzochte monsters in OSPAR Assessment Class A (VDSI Purperslak <0,3) of Class A/B (VDSI Gevlochten Fuikhoorn <0.3).

## 1. Inleiding

Sinds 2005 analyseert IMARES het voorkomen van intersex bij Gewone Alikruiken (*Littorina littorea*) die op vaste locaties langs de Nederlandse kust verzameld worden. Het doel van dit onderzoek is effecten van verontreiniging met organotinverbindingen, specifiek tributyltinverbindingen (TBT), vast te stellen. De uitvoering geschiedt volgens het Projectplan chemisch meetnet MWTL 2012; Monitoren van Biologische effecten in mariene slakken, auteur M.H. van der Weijden, van 12 april 2012, hetgeen bij de aanvraag van de opdracht was toegevoegd.

Gewone Alikruiken zijn algengrazers en in vergelijking met andere gastropoden vrij ongevoelig voor TBT. Blootstelling aan TBT kan leiden tot intersex, een afwijking waarbij de vrouwelijke genitaliën vergroeiën tot mannelijke genitaliën. Bij roofslakken resulteert blootstelling aan TBT in imposex. Hierbij ontwikkelen de vrouwtjes naast normale vrouwelijke genitaliën, ook mannelijke genitaliën, die uiteindelijk de oviduct (eileider) blokkeren, wat leidt tot steriliteit (en sterfte) (Bauer *et al.*, 1995). Imposex treedt al bij veel lagere TBT-gehalten op dan intersex.

De Purperslak (*Nucella lapillus*) is een van de gevoeligste soorten met betrekking tot TBT. Deze soort komt voor in de Zeeuwse wateren en vertoont voldoende variatie in imposex om een realistisch onderscheid te kunnen maken tussen locaties met betrekking tot de TBT belasting (Kaag & Jol, 2007). Door de beperkte verspreiding is deze soort echter niet geschikt om als indicatorsoort voor de gehele Nederlandse kustzone te dienen.

Een alternatief is de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*). Deze soort wordt sinds enkele jaren steeds talrijker aangetroffen tijdens de jaarlijkse schelpdiersurveys die IMARES in opdracht van het Ministerie van EL&I uitvoert in de Nederlandse wateren. Ook de Gevlochten Fuikhoorn vertoont imposex en is gevoeliger dan de Gewone Alikruik, maar niet zo extreem gevoelig als de Purperslak (Stroben *et al.*, 1992a; Bryan *et al.*, 1993; Oehlmann *et al.*, 1996). Vanaf 2009 zijn daarom niet alleen Gewone Alikruiken verzameld op de standaardlocaties, maar zijn ook op vijf locaties Gevlochten Fuikhoorns verzameld (Kaag *et al.*, 2009). De keuze van de locaties was van te voren alleen globaal bepaald (monding Westerschelde, monding Europoort en voor de kust van Noord-Holland), aangezien niet bekend was waar de aantallen hoog genoeg zouden zijn voor het verzamelen van een voldoende groot monster. Het bemonsteringsplan voor 2010 was geënt op de resultaten van 2009. Tijdens de bemonsteringen in 2011 en in 2012 is naast de Gewone Alikruik en de Gevlochten Fuikhoorn, tevens de Purperslak als indicatorsoort bemonsterd (Tabellen 2, 3 en 4) en is de Nederlandse kustzone ingedeeld in bemonsteringsgebieden. Hierdoor kunnen binnen een gebied kleine monsters van een soort samengevoegd worden.

## 2. Methoden

### 2.1 Bemonsteringslocaties

Voor de bemonstering van slakken heeft de Waterdienst 9 aandachtsgebieden gedefinieerd (Tabel 1). De bedoeling was dat in elk aandachtsgebied 1 monster geanalyseerd zou worden.

In de Zeeuwse Delta zouden eventueel Purperslakken gezocht worden langs dijken, indien de aantallen Gevlochten Fuikhoorns, net als in 2010 en in 2011, te laag zouden zijn.

*Tabel 1 Voorgestelde onderzoeklocaties waar de verschillende indicatorsoorten volgens projectplan 2012 bemonsterd dienen te worden (zie figuur 1 voor de ligging van de betreffende locaties)*

Gebied	DONAR-code	Locatie	Soort
Waddenzee kustzone Oost	WADDZKZNOT	Eemshaven	Gewone Alikruik
Waddenzee kustzone West	WADDZKZNWT	Roptazijl	Gewone Alikruik
Hollandse kustzone Noord	HOLLSKZNND	Petten/Den Helder	Gevlochten fuikhoorn
Hollandse kustzone midden	HOLLSKZNMDN	Monding Noordzeekanaal	Gevlochten Fuikhoorn
Hollandse kustzone Zuid	HOLLSKZNZD	Scheveningen	Gevlochten Fuikhoorn
Haringvliet kustzone	HARVKZNE	Monding Haringvliet	Gevlochten Fuikhoorn
Grevelingen kustzone	GREVLGKZNE	Monding Grevelingen	Gevlochten Fuikhoorn
Oosterschelde kustzone	OOSTSDKZNE	Monding Oosterschelde	Gevlochten Fuikhoorn
Westerschelde kustzone	WESTSDKZNE	Monding Westerschelde	Gevlochten Fuikhoorn

In figuur 1 zijn de onderzoeklocaties met hun bijbehorende DONAR-codes voor 2012 weergegeven die door de opdrachtgever in het projectplan zijn voorgesteld. Uit deze kaart blijkt dat locatie Domburg, die in 2011 bij gebied Westerschelde kustzone werd gerekend, toch bij gebied Oosterschelde kustzone hoort. Hier is dit jaar (mede vanwege de omvang van de populatie) bemonsterd voor Oosterschelde kustzone. Voor Westerschelde kustzone is (tevergeefs) gezocht naar een vervangende populaties.

Bij de Gewone Alikruiken wordt de mate van intersex vastgesteld en wordt het organotin-gehalte in het weefsel van de dieren bepaald. Bij de Gevlochten Fuikhoorns en de Purperslakken wordt de mate van imposex vastgesteld en wordt tevens het organotin-gehalte in het weefsel van de dieren bepaald.



Figuur 1 Voorgestelde onderzoekslocaties in 2012 (uit Projectplan 2012).

## 2.2 Intersex en imposex

De uitvoering van de intersex- en imposex-analyses is respectievelijk gedaan in overeenstemming met de standaardvoorschriften RIKZ SPECIE-11 (Jol, 2004) en RIKZ SPECIE-12 (Jol, 2007).

Gewone Alikruiken werden op 26 juni 2012 verzameld, door handmatig op de dijk te rapen bij laag water, op twee Waddenzee locaties (Tabel 2). Op beide locaties zijn voldoende Gewone Alikruiken geraapt voor de analyse van minimaal 40 individuen op het voorkomen van intersex en chemische

analyse van de weefsels op organotin-verbindingen. De verzamelde Gewone Alikruiken zijn dezelfde dag gekoeld (koelbox met voldoende koelementen) naar het laboratorium in Yerseke vervoerd. Intersex bij Gewone Alikruiken kan in een gradueel systeem geclassificeerd worden, waarbij 4 stadia worden onderscheiden, lopend van 0 (geen effect) tot 3 (volledig steriliteit).

De ISI (intersex index) is het gemiddelde intersex stadium van de populatie. De ISI wordt als volgt bepaald:

ISI = som intersex stadia alle vrouwtjes/aantal vrouwtjes

Gevlochten Fuikhoorns werden tussen 3 en 26 april 2012 verzameld tijdens de WOT schelpdierbemonstering (Tabel 3). Tijdens deze bemonstering worden de schelpdieren bemonsterd met de IMARES-bodemschaaf in raaien van 150 meter lang. De schaaft is 15 cm breed, zodat een totale oppervlak van 22,5 m<sup>2</sup> wordt bemonsterd. De verzamelde Gevlochten Fuikhoorns werden zo mogelijk nog dezelfde dag aan boord van het schip geanalyseerd.

Purperslakken werden op 27 juni 2012 verzameld tijdens een aparte bemonstering speciaal voor dit project (Tabel 4). Purperslakken bevinden zich in het intertijdegebied en worden bij laag water handmatig van de stenen geraapt.

De imposex-analyse in beide organismen is uitgevoerd conform Jol J. (2007). Imposex bij Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken kan in een gradueel systeem geclassificeerd worden, lopend van 0 (geen effect) tot 4 (Gevlochten Fuikhoorn) of 6 (Purperslak). Er zijn geen aanwijzingen dat bij de Gevlochten Fuikhoorn steriliteit optreedt (stadia 5 en 6).

De belangrijkste karakteristiek voor de populatie is de VDSI (Vas Deferens Sequence Index). Dit is het gemiddelde imposex stadium in de populatie. De VDSI wordt als volgt bepaald:

$$VDSI = \frac{\sum(\text{intersex stadia van alle vrouwtjes})}{\text{totale aantal vrouwtjes}}$$

Daarnaast kan ook de Relative Penis Size worden uitgedrukt in een index (RPSI). De RPSI wordt als volgt bepaald:

$$RPSI = \frac{\text{gemiddelde lengte van de penis van alle onderzochte vrouwtjes}^3}{(\text{gemiddelde penislengte van alle mannetjes})^3} \times 100$$

Alle onderzochte dieren zijn voorbehandeld voor de analyse op organotin verbindingen. Deze voorbehandeling bestaat uit het zoveel mogelijk verwijderen van de schaal en operculum, schoonspoelen en invriezen. De ingevroren monsters zijn naar het laboratorium van IMARES in IJmuiden gebracht voor analyse op organotin-gehalten.



## 2.3 Chemische analyses

Voor elk monster is van de weefsels van alle onderzochte slakken op intersex en imposex een mengmonster gemaakt t.b.v. organotinanalyses.

Onderstaande stoffen zijn geanalyseerd en gerapporteerd als gehalte Sn of kation. In het rapport zullen verder de volgende afkortingen gebruikt worden om de stof aan te duiden.

Stofnaam	Afkorting	CAS nummer
Tributyltin	TBT	688-73-3
Dibutyltin	DBT	1002-53-5
Monobutyltin	MBT	78763-54-9
Trifenylnin	TPhT	668-34-8
Difenylnin	DPhT	1011-95-6
Monofenylnin	MPhT	2406-68-0

De volgende analysemethoden zijn toegepast:

### Organotin:

Zes organotinverbindingen worden gerapporteerd (MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT en TPhT) als Sn en als kation. Bij deze methode wordt de extractie en derivatisering simultaan uitgevoerd. Een korte beschrijving van de methode is als volgt: Water gebufferd tot een pH 4-5 en een mengsel van azijnzuur en natrium acetaat, methanol en hexaan worden toegevoegd aan het monster. Na een continue toevoeging van natriumtetraethylboraat gedurende 15 minuten en continu roeren, wordt de pH boven de 12 gebracht met natriumhydroxide. De organische laag wordt d.m.v. centrifugeren gescheiden van de waterfase en het extract wordt gefractioneerd over een aluminiumoxide kolom. De stoffen worden, na concentratie van het monster, met behulp van GC-MS geanalyseerd (SIM mode).

De analyse van organotinverbindingen is door de Raad voor Accreditatie opgenomen bij de geaccrediteerde verrichtingen op hun website (geldig van 21/12/2010 t/m 01/04/2013). De componenten TBT en DBT zijn geaccrediteerd (testlaboratoriumnummer L097, verrichting nummer 8). In verband met voortschrijdend inzicht hebben wij voor het bepalen van de organotin gehalten in de monsters in dit rapport een methode toegepast die enigszins afwijkt van de in paragraaf 2.3 genoemde geaccrediteerde methode. De toegepaste methode wijkt op de volgende punten af: De hexaanlaag is gespoeld met methanol na derivatisatie, hetgeen een verbetering van de clean-up stap oplevert. Verder wordt geen gebruik meer gemaakt van plastic buizen, zodat minder last wordt ondervonden van achtergrondsignaal.

### Droge stof:

Voor de bepaling van het droge stofgehalte wordt het gewogen monster gemengd met een oppervlakte vergrotende stof, vervolgens gedroogd in een stoof (105 °C, 3 uur) en na afkoelen in een exsiccator teruggewogen.

De methode is geaccrediteerd door de Raad voor Accreditatie (testlaboratoriumnummer L097, verrichting nummer 2).

De volgende Interne Standaard Werkvoorschriften (ISW) zijn gebruikt:

Organotin	ISW 2.10.3.024 Biota en milieumatrices: "Bepaling van Organotin met behulp van GC-MS"
Vochtgehalte	ISW 2.10.3.011 "Visserijproducten. Bepaling van het gehalte aan vocht (droogstoofmethode)"

### 3. Resultaten

In de tabellen 2, 3 en 4 zijn de exacte posities aangegeven waar in 2012 Gewone Alikruiken, Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken bemonsterd zijn. Tevens zijn de bemonsterdata, locatienamen en de bijbehorende DONAR locatiecodes weergegeven.

Tabel 2 Datum van bemonstering Gewone Alikruiken en exacte posities in de monstergebieden

Datum	Locatiennaam	DONAR-code	Coördinaten (WGS84)		Coördinaten (format DIA)	
			E	N	X	Y
26/06/2012	Waddenzee kustzone Oost	WADDZKZNOT	6°50.20'	53°27.10'	006501200	053270600
26/06/2012	Waddenzee kustzone West	WADDZKZNWT	5°26.20'	53°12.60'	005261200	053123600

Tabel 3 Datum van bemonstering Gevlochten Fuikhoorns en exacte posities in de monstergebieden

Datum	Locatiennaam	DONAR-code	Coördinaten (WGS84)		Coördinaten (format DIA)	
			E	N	X	Y
03/04/2012	Hollandse kustzone Noord	HOLLSKZNND	4°31.67'	52°53.33'	004314000	052532000
03/04/2012	Hollandse kustzone Noord	HOLLSKZNND	4°32.50'	52°43.00'	004323000	052430000
02/04/2012	Hollandse kustzone Zuid	HOLLSKZNZD	4°20.00'	52°14.00'	004200000	052140000
26/04/2012	Haringvliet kustzone	HARVKZNE	3°75.00'	52°02.00'	003750000	052020000

Tabel 4 Datum van bemonstering Purperslakken en exacte posities in de monstergebieden

Datum	Locatiennaam	DONAR-code	Coördinaten (WGS84)		Coördinaten (format DIA)	
			E	N	X	Y
27/06/2012	Grevelingen kustzone	GREVLGKZNE	3°49.60'	51°45.30'	003493600	051451800
27/06/2012	Monding Oosterschelde	OOSTSDKZNE	3°40.60'	51°37.40'	003403600	051372400

Bij de bemonstering kon niet geheel aan het schema van het projectplan worden voldaan. Op de DONAR-locatie WESTSDKZNE zijn namelijk geen slakken aangetroffen. Op de locatie HOLLSKZNMDN zijn geen slakken bemonsterd en op de locatie HOLLSKZNND zijn twee monsters genomen.

In totaal zijn er dus 8 monsters genomen, afkomstig van 7 verschillende DONAR-locaties. De resultaten van alle 8 afzonderlijke monsters worden zowel in dit rapport als in de DIF t.b.v. ICES gerapporteerd.

#### 3.1 Intersex Gewone Alikruiken

In bijlage 1 zijn de resultaten weergegeven van de intersex analyse in de Gewone Alikruiken. In 2012 werd geen intersex waargenomen in de geanalyseerde Gewone Alikruiken. Ongeveer de helft van de onderzochte exemplaren bestond uit vrouwtjes.

### 3.2 Imposex Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken

Bij de Gevlochten Fuikhoorn werd bij alle 3 monsters in de Noordzee kustzone en bij het monster in de Haringvliet kustzone een lichte mate van imposex geconstateerd. Bij de Purperslak werd op beide onderzochte locaties (Scheveningen kustzone en Oosterschelde kustzone) een lichte mate van imposex geconstateerd (Tabel 5). Ongeveer de helft van de onderzochte exemplaren bestond uit vrouwtjes, behalve bij Hollandse kustzone noord (30%). Op de meeste locaties werden slechts 1 of 2 vrouwtjes met imposex aangetroffen, alleen bij Haringvliet kustzone waren dat 4 vrouwtjes (19%). In alle gevallen was sprake van stadium 1a. In bijlage 2 zijn de volledige resultaten weergegeven van de imposex analyse van Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken.

Tabel 5 Resultaten imposex analyse 2012

Locatie	Soort	Aantal vrouwtjes (met imposex)	Stadium	VDSI
Hollandse kustzone noord	Gevlochten Fuikhoorn	13 (1)	1a	0.08
Hollandse kustzone noord	Gevlochten Fuikhoorn	20 (1)	1a	0.05
Hollandse kustzone zuid	Gevlochten Fuikhoorn	23 (2)	1a	0.09
Haringvliet kustzone	Gevlochten Fuikhoorn	21 (4)	1a	0.19
Grevelingen kustzone	Purperslak	27 (2)	1a	0.07
Oosterschelde kustzone	Purperslak	24 (1)	1a	0.04

### 3.3 Organotin gehalten

De resultaten vermeld in dit rapport zijn alleen van toepassing op de geanalyseerde monsters. De analyses van de organotinverbindingen en van droge stof zijn in september/oktober 2012 uitgevoerd.

Het kwaliteitskenmerk Q mag alleen dan worden toegekend aan een resultaat, indien de geanalyseerde component in de onderzochte matrix onder accreditatie valt en aan alle kwaliteitseisen wordt voldaan, zoals genoemd in het toegepaste Interne Standaard Werkvoorschrift (ISW) voor de betreffende geaccrediteerde verrichting.

Voor de bepaling van de organotinverbindingen voldoen de metingen weliswaar aan de kwaliteitscriteria (o.a. de gemeten gehalten in het CRM zijn goed), zoals gesteld in het geaccrediteerde werkvoorschrift, maar zijn we momenteel bezig om de methode te verbeteren. Achtergrond hiervan is dat over het algemeen gehalten aan TBT in ringonderzoeken (in sediment en biota) gemeten worden die aan de hoge kant zijn. In verband met voortschrijdend inzicht hebben wij voor het bepalen van de organotin gehalten in de monsters in dit rapport een methode toegepast die enigszins afwijkt van de in paragraaf 2.3 genoemde geaccrediteerde methode. De toegepaste methode wijkt op de volgende punten af: De hexaanlaag is gespoeld met methanol na derivatisatie, hetgeen een verbetering van de clean-up stap oplevert. Verder wordt geen gebruik meer gemaakt van plastic buizen, zodat minder last wordt ondervonden van achtergrondsignaal.

Aangezien de metingen van de organotinverbindingen voldoen aan alle kwaliteitscriteria, zoals genoemd in betreffend ISW, zijn de gerapporteerde gehalten als normale waarden (met kwaliteitswaardecode O) gerapporteerd, maar mogen de gehalten derhalve niet met het kwaliteitskenmerk Qflex worden gerapporteerd.

De resultaten van de analyses aan organotinverbindingen in Gewone Alikruiken, Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken zijn weergegeven in bijlage 3.

Eind januari 2012 is een Voorstel voor een "Richtlijn van het Europees parlement en de raad" tot wijziging van Richtlijnen 2000/60/EG en 2008/105/EG betreffende prioritair stoffen op het gebied van het waterbeleid verschenen. In deze richtlijn is TBT weliswaar aangewezen als prioritair gevaarlijke stof, maar er is geen norm voor TBT in biota in deze richtlijn opgenomen.

Alleen TBT was in alle monsters aanwezig in concentraties boven de rapportagegrens. De concentratie TBT kation varieerde van 2.8 µg/kg (Gewone Alikruik, WADDZKZNWT) tot 11 µg/kg (Purperslakken, OOSTSDKZNE).

In bijlage 4.1 zijn de gemeten gehalten in een meegeanalyseerd referentiemateriaal weergegeven. Het betreft het gecertificeerde referentiemateriaal sediment (CRM SOPH-1).

De door IMARES gemeten gehalten in dit monster worden voor de componenten TBT, DBT en MBT als kation binnen de 2s-grenzen van de gecertificeerde waarden teruggevonden en kunnen dus als goed gekwalificeerd worden. Voor de overige organotincomponenten zijn geen gecertificeerde waarden vastgesteld voor dit CRM.

In bijlage 4.2 zijn de resultaten van deelname aan Quasimeme ringonderzoeken weergegeven.

De componenten die met Q aangegeven zijn voldoen aan de kwaliteitskenmerken volgens ISO 19025.

In bijlage 4.3 zijn de rapportagegrenzen van de monsters weergegeven.

De OSPAR richtlijn voor de rapportagegrens voor TBT is 1 µg/kg nat gewicht uitgedrukt als Sn (OSPAR Agreement, 2008).

De rapportagegrenzen bij de toegepaste methode worden afgeleid van de laagste gemeten standaard. Vanwege verschillen in ingewogen hoeveelheden worden verschillende rapportagegrenzen gerapporteerd.

Een compromis voor de rapportagegrenzen, berekend aan de hand van de gemiddelde inweeg van de monsters, is weergegeven in bijlage 4.3. De gerapporteerde rapportagegrens (0.5 µg/kg nat gewicht) voldoet aan boven gestelde richtlijn voor de rapportagegrens voor TBT (1 µg/kg nat gewicht).

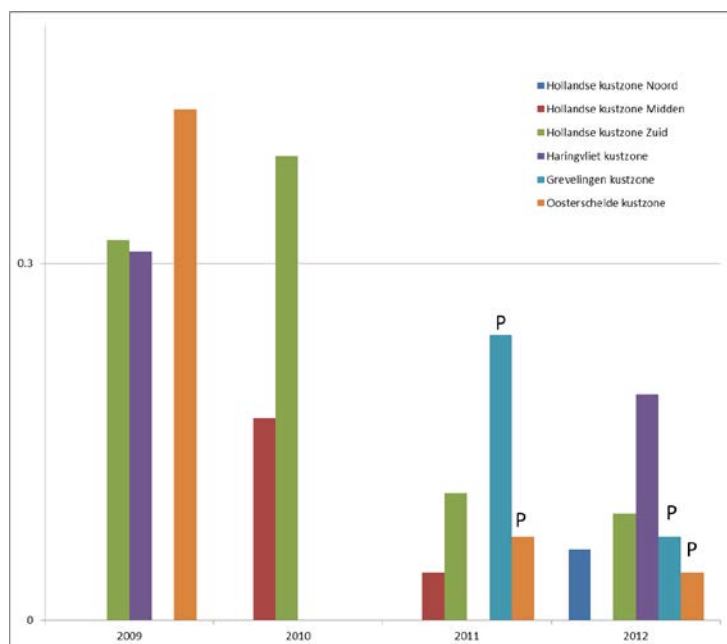
Alle TBT-gehalten liggen boven de rapportagegrens.

#### 4. Discussie en conclusie

Op geen van beide bemonsterde locaties werden intersex-verschijnselen gevonden bij de Gewone Alikruiken. Door hun geringere gevoeligheid vertonen de Gewone Alikruiken geen verschijnselen van intersex meer.

In 2009 zijn voor het eerst Gevlochten Fuikhoorns verzameld langs de Nederlandse kust. Deze vertoonden in beperkte mate verschijnselen van imposex (Kaag *et al.*, 2009). In 2010, 2011 en 2012 werden wederom Gevlochten Fuikhoorns verzameld. Gepoogd werd zoveel mogelijk te verzamelen op locaties die ook in 2009/2010 en 2011 bemonsterd waren. Ten zuiden van de Nieuwe Waterweg werden echter te weinig Gevlochten Fuikhoorns gevonden (hooguit 1 á 2 per locatie). Er is daarom voor gekozen hier Purperslakken te bemonsteren. In de Monding van de Westerschelde zijn helemaal geen slakken aangetroffen. Om kleinere monsters samen te kunnen voegen tot een groot monster en om de analyse van Purperslakken aan te laten sluiten op die van de Gevlochten Fuikhoorns, zijn in 2011 wat grotere bemonsteringsgebieden vastgesteld. In 2012 zijn hiervan de definitieve begrenzingen bekend geworden. Het monster Purperslakken dat in 2011 gerapporteerd is bij bemonsteringsgebied Westerschelde kustzone (locatie Domburg), blijkt nu binnen het gebied Oosterschelde kustzone te vallen. Uit het gebied Westerschelde kustzone zijn daarom uit de hele periode 2009-2012 geen analyse resultaten beschikbaar. Door een fout aan boord is het monster voor Hollandse kustzone Midden te ver noordelijk genomen. Daardoor zijn twee monsters geanalyseerd in Hollandse kustzone Noord.

De resultaten van de afgelopen 4 jaar zijn weergegeven in *Figuur 2*. Voor het eerst zijn verschijnselen van imposex aangetroffen bij twee vrouwtjes uit Hollandse kustzone Noord. Over het geheel is een duidelijke afname van imposex in slakken langs de Nederlandse kust waarneembaar.



*Figuur 2. Imposex in Gevlochten Fuikhoorns en Purperslak (P) langs de Nederlandse kust. De lijn bij VDSI 0.3 geeft grenswaarde laagste EAC aan.*

De VDSI van de Gevlochten Fuikhoorns valt bij alle locaties in OSPAR Assessment Class A/B (VDSI <0,3) (OSPAR, 2003; 2004). Dit is beter dan in 2009 en 2010 (Kaag *et al.*, 2009; 2010). Ook de VDSI van de Purperslak, een nog gevoeliger soort, wijst in deze richting. Voor deze soort was de VDSI in 2011 <0.3, waarmee de desbetreffende locaties Assessment Class A scoren (Hoek-van Nieuwenhuizen & Jol, 2011). Dit jaar was de VDSI bij de Purperslakken nog lager.

Geconcludeerd kan worden dat voor het tweede opeenvolgende jaar nauwelijks effecten van TBT gevonden zijn bij slakken in de Nederlandse kustzone. Dit wordt ondersteund door de lage TBT-gehalten in het vlees van de dieren.

## Kwaliteitsborging

IMARES beschikt over een ISO 9001:2008 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem (certificaatnummer: 124296-2012-AQ-NLD-RvA). Dit certificaat is geldig tot 15 december 2015. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV Certification B.V. Daarnaast beschikt het chemisch laboratorium van de afdeling Vis over een NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005 accreditatie voor testlaboratoria met nummer L097. Deze accreditatie is geldig tot 27 maart 2013 en is voor het eerst verleend op 27 maart 1997; deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie.

Om de kwaliteit van de analyses te garanderen participeert IMARES in de door QUASIMEME georganiseerde ringtesten betreffende imposex en intersex in mariene slakken (BE-1) en de analyse van organotinverbindingen in biota. Deze ringtest was dit jaar voor het eerste sinds 2009 weer open voor deelname (Round 70 exercise 991). De resultaten hiervan waren 'Satisfactory', d.w.z. Z-score voor VDSI <2.

## Referenties

- Bauer B., P. Fioroni, I. Ide, S. Liebe, J. Oehlmann, E. Stroben & B. Watermann (1995) TBT effects on the female genital system of *Littorina littorea*: A possible indicator of tributyltin pollution. *Hydrobiologia* 309:15-27.
- Bryan G.W., G.R. Burt, P.E. Gibbs & P.L. Pascoe (1993) *Nassarius reticulatus* (Nassariidae: Gastropoda) as an indicator of tributyltin pollution before and after TBT restrictions. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 73(4):913-929.
- Gibbs P.E., G.W. Bryan, P.L. Pascoe & G.R. Burt (1987) The use of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 67:507-523.
- Gibbs P.E. (1999) Biological effects of contaminants: Use of imposex in the dogwhelk (*Nucella lapillus*) as a bioindicator of tributyltin pollution. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, No. 24.
- Hoek-van Nieuwenhuizen M. & J. Jol (2011) TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik, de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak langs de Nederlandse kust in 2011. IMARES rapport C120/11A.
- Jol J. (2004) Vaststellen van intersex bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea* L.). RIKZ standaardvoorschrift SPECIE-11.
- Jol J. (2007) Vaststellen van imposex bij de Purperslak (*Nucella lapillus* L.). RIKZ standaardvoorschrift SPECIE-12.
- Kaag N.H.B.M. & J. Jol (2007) Monitoring imposex bij de purperslak, *Nucella lapillus*, in de Zeeuwse wateren. IMARES rapport C112/07.
- Kaag N.H.B.M., J. Jol & M. Hoek-van Nieuwenhuizen (2009) TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) en de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) langs de Nederlandse kust in 2009. IMARES rapport C113/09.
- Kaag N.H.B.M., J. Jol & M. Hoek-van Nieuwenhuizen (2010) TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) en de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) langs de Nederlandse kust in 2010. IMARES rapport C130/10.
- Oehlmann J., E. Stroben, U. Schulte-Oehlmann, B. Bauer, P. Fioroni & B. Markert (1996) Tributyltin biomonitoring using prosobranchs as sentinel organisms. *Fresenius J. Anal. Chem.* 354(5-6):540-545.
- OSPAR (2003) Harmonisation of criteria for the assessment of TBT-specific biological effects. OSPAR MON 03/3/1-E.
- OSPAR (2004) Provisional JAMP Assessment Criteria for TBT - Specific Biological Effects. OSPAR Agreement 2004-15.
- OSPAR (2008) JAMP Guidelines for Contamination Specific Biological Effects. OSPAR Agreement 2008-09.
- Standaard voorschrift A646. Analyse van butyltin en phenyltin verbindingen in mosselen, RIKZ, Haren, 1999.
- Stroben E., J. Oehlmann & P. Fioroni (1992a) *Hinia reticulata* and *Nucella lapillus*. Comparison of two gastropod tributyltin bioindicators. *Mar. Biol.* 114:289-296.
- Stroben E., J. Oehlmann & P. Fioroni (1992b) The morphological expression of imposex in *Hinia reticulata* (Gastropoda: Buccinidae): A potential indicator of tributyltin pollution. *Mar. Biol.* 113(4):625-636.



Weijden, M.H. van der (2012). Projectplan chemisch meetnet MWTL 2012. Monitoren van Biologische effecten in mariene slakken, 12 april 2012, RWS/Waterdienst.

## Verantwoording

Rapportnummer : C112/12

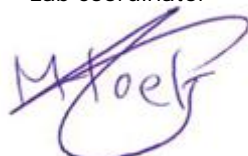
Projectnummer : 4305110401

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende afdelingshoofd van IMARES.

De lab coördinator heeft de analyse resultaten gecontroleerd en vrijgegeven:

Akkoord: M. Hoek-van Nieuwenhuizen  
Lab coördinator

Handtekening:



Datum: 23 januari 2013

Akkoord: Drs. M. de Wit  
Hoofd afdeling Experimentele Ecologie

Handtekening:



Datum: 23 januari 2013

## Bijlage 1. Resultaten intersex analyse Gewone Alikruiken

Intersex				monster datum	aantal onderzocht	aantal vrouwtjes	gemiddelde penislengte vrouwtjes	gemiddelde penislengte mannetjes	aantal vrouwtjes met intersex	stadium				ISI
RQ-nummer	LIMSnr.	Monster soort	DONARcode							0	1	2	3	
RQ20120730/043	2012/0720	Gewone alikruiken	WADDZKZNOT	26/06/2012	40	20	n.b.	n.b.	0	20				0.00
RQ20120730/044	2012/0721	Gewone alikruiken	WADDZKZNWT	26/06/2012	40	27	n.b.	n.b.	0	27				0.00

## Bijlage 2. Resultaten imposex analyse Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken

Imposex				monster datum	aantal onderzocht	aantal vrouwtjes	gemiddelde penislengte vrouwtjes	gemiddelde penislengte mannetjes	aantal vrouwtjes met imposex	stadium					VDSI	RPSI
RQ-nummer	LIMSnr.	Monster soort	DONARcode							0	1a	2	3b	4		
RQ20120730/045	2012/0722	Gevlochten Fuikhoorns	HOLLSKZNN	03/04/2012	43	13	0.0577	13.4375	1	12	1				0.08	0.000008
RQ20120730/046	2012/0723	Gevlochten Fuikhoorns	HOLLSKZNN	03/04/2012	42	20	0.0188	14.2045	1	19	1				0.05	0.000000
RQ20120730/047	2012/0724	Gevlochten Fuikhoorns	HOLLSKZNZD	02/04/2012	40	23	0.0326	13.5735	2	21	2				0.09	0.000001
RQ20120730/048	2012/0725	Gevlochten Fuikhoorns	HARVKZNE	26/04/2012	40	21	0.0521	13.0703	4	17	4				0.19	0.000006
RQ20120730/049	2012/0726	Purperslakken	GREVLGKZNE	27/06/2012	40	27	0.0407	4.1692	2	25	2				0.07	0.000093
RQ20120730/050	2012/0727	Purperslakken	OOSTSDKZNE	27/06/2012	40	24	0.0125	3.5313	1	23	1				0.04	0.000004

**Bijlage 3. Gehalten aan organotinverbindingen in Gewone alikruiken, Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken 2012 in µg/kg nat gewicht**

RQnummer	LIMSnr.	Monster soort	DONARcode	Monster- datum	DBT Sn µg/kg	DBT kation µg/kg	DPhT Sn µg/kg	DPhT kation µg/kg	MBT Sn µg/kg	MBT kation µg/kg	MPhT Sn µg/kg	MPhT kation µg/kg	TBT Sn µg/kg	TBT kation µg/kg	TPhT Sn µg/kg	TPhT kation µg/kg	droge stof %
RQ20120730/043	2012/0720	Gewone alikruiken	WADDZKZNOT	26/06/2012	2.5	5.0	<0.8	<1.9	7.2	11	<0.9	<1.6	2.0	4.9	<0.7	<2.1	22.0
RQ20120730/044	2012/0721	Gewone alikruiken	WADDZKZNWT	26/06/2012	1.1	2.1	<0.5	<1.2	0.6	0.9	<0.6	<1.0	1.2	2.8	<0.4	<1.3	22.7
RQ20120730/045	2012/0722	Gevlochten Fuikhoorns	HOLLSKZNND	03/04/2012	1.3	2.6	<0.3	<0.8	2.3	3.4	<0.4	<0.6	1.5	3.8	<0.3	<0.8	23.7
RQ20120730/046	2012/0723	Gevlochten Fuikhoorns	HOLLSKZNND	03/04/2012	<2.9	<5.8	<2.5	<6.0	<3.2	<4.8	<3.0	<5.1	2.8	6.9	<2.1	<6.5	25.1
RQ20120730/047	2012/0724	Gevlochten Fuikhoorns	HOLLSKZNZD	02/04/2012	1.9	3.7	<0.2	<0.6	1.0	1.4	<0.3	<0.5	2.6	6.3	<0.2	<0.6	25.2
RQ20120730/048	2012/0725	Gevlochten Fuikhoorns	HARVKZNE	26/04/2012	1.9	3.7	<0.7	<1.7	1.2	1.8	<0.8	<1.4	3.4	8.4	<0.6	<1.8	23.8
RQ20120730/049	2012/0726	Purperslakken	GREVLGKZNE	27/06/2012	1.0	1.9	<0.3	<0.6	<0.3	<0.5	<0.3	<0.5	2.2	5.3	<0.2	<0.7	29.0
RQ20120730/050	2012/0727	Purperslakken	OOSTSDKZNE	27/06/2012	<2.2	<4.3	<1.9	<4.5	<2.4	<3.6	<2.2	<3.7	4.4	11	<1.6	<4.8	30.3
alle gehalten zijn met kwaliteitswaardecode 0 (normale waarde) gerapporteerd in DONAR																	

## Bijlage 4.1 Resultaten referentiematerialen

Component	Referentiemateriaal	IMARES-waarde in 2012	n in 2012	IMARES-waarde QC-kaart	n totaal	ng/dg	gecertificeerde waarde	eenheid	kwalificatie
TBT als kation	CRM SOPH-1(Sediment)	136.9 ± 17.3	3	132.6 ± 21.6	16	dg	125 ± 7	µg/kg	goed
DBT als kation	CRM SOPH-1(Sediment)	173.3 ± 34.3	3	170.0 ± 31.2	16	dg	174 ± 9	µg/kg	goed
MBT als kation	CRM SOPH-1(Sediment)	124.1 ± 0.4	2	122.0 ± 24.0	2	dg	geen	µg/kg	goed
Vocht	haring/makreel IRM 2005/0775	69.97 ± 0.52	28	70.00 ± 0.54	147	ng	n.v.t.	%	goed

## Bijlage 4.2 Resultaten ringonderzoek Quasimeme in biota (labcode: Q127A IMARES)

Exercise	Round	Period	Matrix	Determinand	Mean	Units	Z-score	Qualification
947	66	jul-okt 2011	QSP038BT	TBT	5.400	µgSn/kg	-2.7	Questionable
947	66	jul-okt 2011	QSP038BT	DBT	5.500	µgSn/kg	-3.7	Unsatisfactory
947	66	jul-okt 2011	QSP038BT	MBT	0.700	µgSn/kg		Blanc
947	66	jul-okt 2011	QSP038BT	TPhT	<0.100	µgSn/kg		Blanc
947	66	jul-okt 2011	QSP038BT	DPht	<0.200	µgSn/kg		Blanc
947	66	jul-okt 2011	QSP038BT	MPhT	<0.200	µgSn/kg		Blanc
Exercise	Round	Period	Matrix	Determinand	Mean	Units	Z-score	Qualification
947	66	jul-okt 2011	QSP039BT	TBT	<0.200	µgSn/kg		Inconsistent
947	66	jul-okt 2011	QSP039BT	DBT	0.900	µgSn/kg	-1.6	Satisfactory
947	66	jul-okt 2011	QSP039BT	MBT	<0.200	µgSn/kg		Inconsistent
947	66	jul-okt 2011	QSP039BT	TPhT	<0.100	µgSn/kg		Blanc
947	66	jul-okt 2011	QSP039BT	DPht	<0.200	µgSn/kg		Blanc
947	66	jul-okt 2011	QSP039BT	MPhT	<0.200	µgSn/kg		Blanc
Exercise	Round	Period	Matrix	Determinand	Mean	Units	Z-score	Qualification
964	68	jan-meï 2012	QSP040BT	TBT	47.00	µg/kg	13.3	Unsatisfactory
964	68	jan-meï 2012	QSP040BT	DBT	3.300	µg/kg	1.9	Satisfactory
964	68	jan-meï 2012	QSP040BT	MBT	<1.200	µg/kg		Consistent
964	68	jan-meï 2012	QSP040BT	TPhT	<0.600	µg/kg		Blanc
964	68	jan-meï 2012	QSP040BT	DPht	<0.900	µg/kg		Blanc
964	68	jan-meï 2012	QSP040BT	MPhT	<1.100	µg/kg		Blanc
960	68	jan-meï 2012	QTM093BT	Droge stof	19.40	%	0.0	Satisfactory
Exercise	Round	Period	Matrix	Determinand	Mean	Units	Z-score	Qualification
964	68	jan-meï 2012	QSP041BT	TBT	9.500	µg/kg	0.2	Satisfactory
964	68	jan-meï 2012	QSP041BT	DBT	11.00	µg/kg	0.4	Satisfactory
964	68	jan-meï 2012	QSP041BT	MBT	4.100	µg/kg	-2.5	Questionable
964	68	jan-meï 2012	QSP041BT	TPhT	<0.600	µg/kg		Blanc
964	68	jan-meï 2012	QSP041BT	DPht	<1.000	µg/kg		Blanc
964	68	jan-meï 2012	QSP041BT	MPhT	<1.100	µg/kg		Blanc
960	68	jan-meï 2012	QTM094BT	Droge stof	40.40	%	0.0	Satisfactory

Indien een z-score de kwalificatie 'unsatisfactory' heeft gekregen wordt daarop, vastgelegd in ons kwaliteitssysteem, adequaat actie ondernomen. De betekenissen van de kwalificaties, zoals door Quasimeme toegekend, zijn als volgt:

Satisfactory:  $|Z| < 2$ , resultaat voldoet

Unsatisfactory:  $|Z| > 3$ , resultaat voldoet niet (adequate actie vereist)

Questionable:  $|Z| < 3$ , resultaat is twijfelachtig (geen actie vereist)

Consistent: er is een waarde ( $x$ ) < rapportagegrens door het deelnemend lab gerapporteerd, deze waarde was in overeenstemming met de assigned value (consensus waarde), bv. < 0.03 gerapporteerd, terwijl assigned value 0.02 is

Inconsistent: er is een waarde ( $x$ ) < rapportagegrens door het deelnemend lab gerapporteerd, deze waarde was niet in overeenstemming met de assigned value (consensus waarde), bv. < 0.03 gerapporteerd, terwijl assigned value 0.06 is

Blanc: geen z-score bepaald door Quasimeme (mogelijke oorzaken: te weinig laboratoria hebben resultaten gerapporteerd of de spreiding van de resultaten tussen de laboratoria onderling was te groot)

De resultaten voor zowel ronde 66, als ronde 68 zijn gerapporteerd aan Quasimeme. Voor de meeste resultaten kon, vanwege statistische overwegingen door Quasimeme, geen Z-score berekend worden. Aan deze resultaten is de kwalificatie Blanc toegekend. Er is 2 keer de kwalificatie Unsatisfactory toegekend, nl. voor DBT in monster QSP038BT en voor TBT in monster QSP040BT.



### Bijlage 4.3 Rapportagegrenzen en meetonzekerheid

Component	rapportagegrens	detectielimiet	unit	ng/dg	$v_c$	n	$d_c$ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Accreditatie
					rel. standard uncertainty (%)			
TBT als Sn	0.5		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	15.4	2	0	geen Qflex
DBT als Sn	0.5		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	16.1	4	0	geen Qflex
MBT als Sn	0.6		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	nog niet vastgesteld, $n < 8$	1		geen Qflex
TPhT als Sn	0.4		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	niet vastgesteld			geen Qflex
DPhT als Sn	0.5		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	niet vastgesteld			geen Qflex
MPhT als Sn	0.5		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	niet vastgesteld			geen Qflex
TBT als kation	1.2		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	15.4	2	0	geen Qflex
DBT als kation	1.1		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	16.1	4	0	geen Qflex
MBT als kation	0.9		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	nog niet vastgesteld, $n < 8$	1		geen Qflex
TPhT als kation	1.2		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	niet vastgesteld			geen Qflex
DPhT als kation	1.1		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	niet vastgesteld			geen Qflex
MPhT als kation	0.9		$\mu\text{g}/\text{kg}$	ng	niet vastgesteld			geen Qflex
droge stof	1	0.5	%	ng	3.73	45	0	Q
op basis van juistheidsbepaling en monsterinhomogeniteit								
verwaarloosbaar klein								
n = aantal ringonderzoeken aan de hand waarvan een Z-score bepaald kon worden								
$d_c$ is de combined constant error in de eenheid van de concentratie van de component								
De rapportagegrens is berekend aan de hand van de gemiddelde inweeg van de monsters								

De RMS (root mean square) wordt berekend volgens NEN 7779 als basis voor de gecombineerde meetonzekerheid (standard uncertainty) uit de resultaten van verschillende ringonderzoeken (verschillende matrices) van meerdere rondes ( $n > 8$ ). De relatieve uitgebreide meetonzekerheid (expanded uncertainty) is gedefinieerd als twee maal de relatieve standard uncertainty. De relatieve standard uncertainty is weergegeven in bijlage 4.3. Hierin zijn de reproduceerbaarheid, de tussenmonster-spreiding en de methode juistheid verwerkt. Eventuele inhomogeniteit van het monster is hier niet in verwerkt, maar is bij ringonderzoekmonsters niet van toepassing.

Voor de rapportage aan OSPAR dient bij iedere meetwaarde de expanded uncertainty (95% betrouwbaarheidsinterval) berekend te worden. De expanded uncertainty is gedefinieerd als tweemaal de standaard deviatie. Voor OSPAR dient dus een absolute meetonzekerheid gerapporteerd te

worden. De berekening van de absolute expanded uncertainty is gebaseerd op onderstaande formules uit de OSPAR guideline voor de bepaling van de meetonzekerheid. De relative standard uncertainty (uitgedrukt in %) wordt door IMARES als maat voor de  $v_c$  gehanteerd. In bijlage 4.3 zijn zowel de relative standard uncertainty ( $=v_c$ ) als de constant error ( $=d_c$ ) opgenomen. Beide dienen als input in de formules voor de berekening van de absolute expanded uncertainty.

Formules uit de OSPAR guideline:

$$s_c = \sqrt{d_c^2 + \left(\frac{v_c}{100}\right)^2 C^2}$$

waarin:

$S_c$  = standard deviation (eenheid = eenheid van concentratie component)

$d_c$  = "combined constant error" (eenheid = eenheid van concentratie component)

$v_c$  = variatie coëfficiënt (eenheid= percentage)

$C$  = concentratie van de component in het monster (meetwaarde)

$$U_C = 2s_c$$

waarin:

$U_c$  = (absolute) expanded uncertainty (eenheid = eenheid van concentratie component)

Voor componenten waarvoor geen deelname plaatsvindt aan ringonderzoeken is, indien mogelijk, de meetonzekerheid vastgesteld op basis van juistheidsbepaling en monsterinhomogeniteit. Voor componenten waarvoor zowel geen ringonderzoeken als geen referentiematerialen voorhanden zijn, kan de meetonzekerheid niet worden vastgesteld. Voor componenten waarvoor het aantal deelgenomen rondes aan ringonderzoeken minder bedraagt dan 8, kan nog geen meetonzekerheid worden vastgesteld volgens NEN 7779.