

Onderzoek naar verspreiding, effecten en risico's van microplastics in het Vlaamse oppervlaktewater

Deelrapport 1 : Methodologie voor de bepaling van
microplastic vervuiling in diverse matrices.

Onderzoek naar verspreiding, effecten en risico's van microplastics in het Vlaamse oppervlaktewater

Opdrachtgever: Vlaamse Milieumaatschappij

Partners:

VMM

Universiteit Gent

VITO

Dr. Maaïke Vercauteren

Ilias Semmouri

Emmanuel Van Acker

Emmy Pequeur

Leen Van Esch

Inge Uljee

Prof. Dr. ir. Jana Asselman

Prof. Dr. Colin Janssen

Ghent University (UGent)

Laboratory of Environmental Toxicology and Aquatic Ecology

Environmental Toxicology Unit (GhEnToxLab)

E Colin.Janssen@UGent.be

T +32 9 264 89 19 (secretary) or +32 9 264 37 75 (direct line)

Campus Coupure, Building F, 2nd Floor

Coupure Links 653, 9000 Ghent

www.ugent.be

<http://www.ecotox.ugent.be/>



Voorwoord

Dit deelrapport beschrijft de standaard methoden en protocollen voor de analyses die werden toegepast in het onderzoek naar microplastic verontreiniging in Vlaanderen. Volgende procedures worden in detail beschreven:

- Het verzamelen van de stalen
- Verwerking van de stalen in het labo
- Analyse van de stalen met behulp van Fourier-transformatie infrarood (FTIR) spectroscopie
- Kwaliteitscontrole van de data

De methodologie voor microplastic onderzoek is nog in volle ontwikkeling en er bestaan tot op heden geen gestandaardiseerde methoden. Daarom sluiten we in dit deelrapport ook een aantal geleerde lessen die toekomstig onderzoek kunnen sturen en optimaliseren.

Dit deelrapport is onlosmakelijk verbonden met het kernrapport getiteld 'Onderzoek naar verspreiding, effecten en risico's van microplastics in het Vlaamse oppervlaktewater' dat alle nodige resultaten en de interpretatie ervan bevat. Dit kernrapport is terug te vinden via www.vmm.be/publicaties.

Deze studie kwam tot stand door een nauwe samenwerking tussen de Vlaamse Milieumaatschappij (VMM), Universiteit Gent (GhEnToxLab) en de Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek (VITO).

Inhoudstafel

<u>Lijst van tabellen</u>	p.6
<u>Lijst van figuren</u>	p.6
<u>Afkortingen</u>	p.7
<u>Hoofdstuk 1: Opzet van de studie</u>	p.8
<u>Hoofdstuk 2: Staalname</u>	p.11
2.1 Distributie in zoetwatermilieus	
2.1.1 Locatie van de staalname	
2.1.2 Staalname methode	
2.1.3 Kwaliteitscontrole	
2.2 Bronnen van microplastics	
2.2.1 Locatie van staalname	
2.2.2 Staalname methode	
2.2.3 Kwaliteitscontrole	
2.3 Transport van microplastics	
2.3.1 Run-off en atmosferische depositie	
2.3.2 Zuivering tijdens transport - rioolwaterzuiveringsinstallaties	
2.4 Blootstelling aan microplastics voor mens en dier	
2.4.1 Drinkwater	
2.4.2 Biota	
<u>Hoofdstuk 3: Microplastic bepaling in de stalen</u>	p.25
3.1 Extractie van microplastics	
3.1.1 Waterige stalen	
3.1.2 Sediment stalen	
3.1.3 Drinkwaterstalen	
3.1.4 Biota	
3.2 Analyse en identificatie	
<u>Hoofdstuk 4: Kwaliteitszorg</u>	p.29
4.1 Voorzorgsmaatregelen	
4.2 Negatieve controles of blanco stalen	
4.2.1 Methode	
4.2.2 Correctie voor controles	
<u>Hoofdstuk 5 Dataverwerking en analyse</u>	p.32
<u>Hoofdstuk 6: ‘Lessons to be learned’</u>	p.33

<u>Dankwoord</u>	p.34
<u>Referenties</u>	p.35
<u>Bijlagen: staalname procedure voor microplastics</u>	p.37

Bijlage 1. Staalname procedure voor microplastics in oppervlaktewater, sediment en biota.

Bijlage 2: Staalname procedure voor microplastics in verschillende stromen van een RWZI.

Bijlage 3. Staalname procedure voor microplastics in run-off waterstalen en atmosferische depositie.

Bijlage 4. Staalname procedure voor microplastics in door waterproductiecentra geleverd stadswater.

Lijst van tabellen

Tabel 1: Overzicht van de verzamelde stalen. In het rood worden additionele stalen weergegeven die niet ingesloten werden in het contract.

Tabel 2: Overzicht staalnames voor microplastic concentratie bepaling in oppervlaktewater en sediment in Vlaamse waterlopen

Tabel 3: Overzicht van het aandeel van de verschillende bronnen in het influent van de vier bemonsterde kleinschalige waterzuiveringsinstallaties.

Tabel 4: Informatie rond de staalnames in kleinschalige waterzuiveringsinstallaties (KWZI).

Tabel 5: Informatie over de staalname locaties voor microplastic concentratiebepaling in run-off en via atmosferische depositie

Tabel 6: Geselecteerde rioolwaterzuiveringsinstallaties (RWZI) met vermelding van de waterlopen (en hun stroomgebied) waarin het effluent geloosd wordt.

Tabel 7: Informatie staalnames in rioolwaterzuiveringsinstallaties

Tabel 8: Informatie rond de staalnames voor microplastic bepaling in drinkwater (waterproductiecentra (WPC) en stadswaterkranen (SWK))

Tabel 9: Informatie staalname microplastic bepaling in biota

Tabel 10: Overzicht van de meest frequent voorkomende polymeertypes uit aquatische milieus, hun gangbare afkorting en hun densiteit (aangepast uit Duis en Coors, 2016).

Tabel 11: Overzicht van de bekomen LOD (limit of detection) en LOQ (limit of quantification) waarden die berekend werden per matrix en per polymeertype

Lijst van figuren

Figuur 1: Schematisch overzicht van de verschillende schakels die belangrijk zijn voor de emissie van microplastics in de omgeving. Vormen die met een dikkere kader omlijnd zijn, werden bestudeerd in deze studie.

Figuur 2: Geografische verspreiding van de geselecteerde staalname locaties voor verschillende matrices: KWZI: kleinschalige waterzuiveringsinstallatie; ROF: run-off van bandenpartikels; SWK: stadswaterkranen; OW: Oppervlaktewater en sediment in zoetwatermilieus; RWZI: rioolwaterzuiveringsinstallatie; WPC: waterproductiecentra.

Figuur 3: Geselecteerde staalname locaties voor onderzoek naar de distributie van microplastics in het zoetwatermilieu in Vlaanderen

Figuur 4: Geselecteerde kleinschalige waterzuiveringsinstallaties voor onderzoek naar de microplastic concentratie in huishoudelijk afvalwater

Figuur 5: Geselecteerde staalname locaties voor onderzoek naar de concentratie microplastics in run-off en atmosferische depositie

Figuur 6: Geselecteerde staalname locaties om de concentraties microplastics te onderzoeken in rioolwaterzuiveringsinstallaties

Figuur 7: Geselecteerde staalname locaties voor concentratie bepaling in drinkwater in waterproductiecentra (WPC) en aan stadswaterkranen (SWK)

Figuur 8: Voorbeeld van de gebruikte correctiemethode om mogelijke contaminatie in rekening te brengen. De LOD ('limit of detection') en LOQ ('limit of quantification') waarden werden per matrix en per polymeertype berekend.

Afkortingen

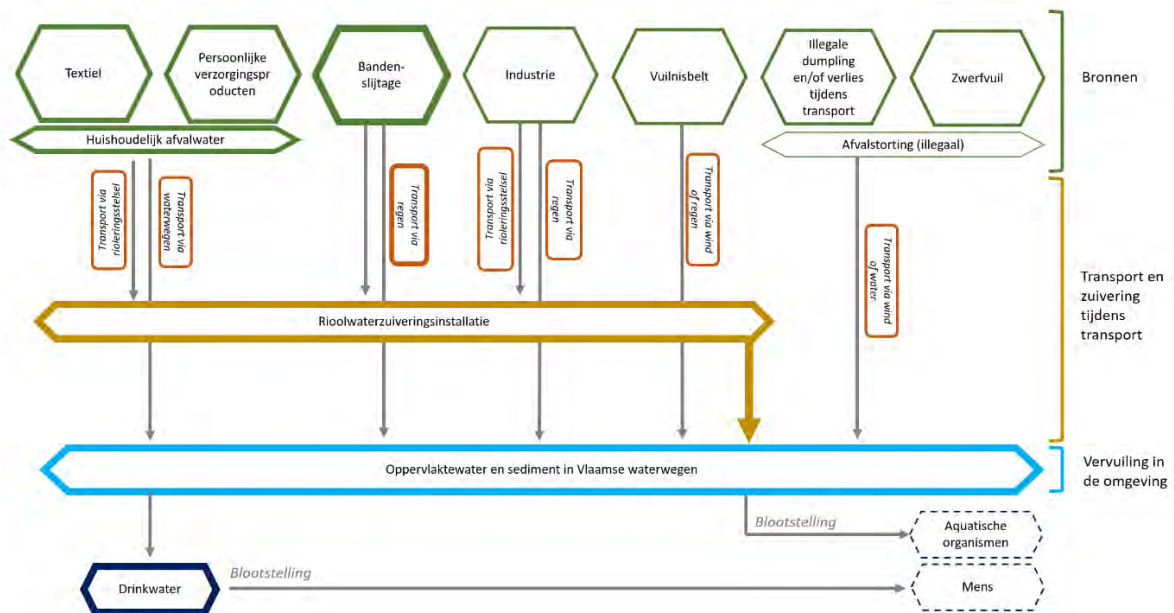
FTIR	Fourier-transformatie infrarood spectroscopie
GLP	' <i>Good laboratory practices</i> '
H ₂ O ₂	Waterstofperoxide
IE	Inwoner equivalent
KOH	Kaliumhydroxide
KWZI	Kleinschalige rioolwaterzuiveringsinstallatie
LOD	Limiet voor detectie (<i>Limit of Detection</i>)
LOQ	Limiet voor kwantificatie (<i>Limit of Quantification</i>)
MP	Microplastic
NaI	Natriumjodide
OW	Oppervlaktewater
PTFE	Polytetrafluoroethyleen
PVC	Polyvinylchloride
ROF	Run-off staal
RPM	Toeren per minuut
RWZI	Rioolwaterzuiveringsinstallatie
SWK	Stadswaterkraan
WPC	Waterproductiecentra

Hoofdstuk 1: Opzet van de studie

Microplastics (MP) zijn wereldwijd verspreid en hoewel deze heel wat aandacht krijgen, bestaan er tot op heden nog veel onduidelijkheden over de verspreiding van microplastics in natuurlijke systemen, de belangrijkste bronnen en transportroutes en mogelijke mitigerende acties die we als mensen of samenleving kunnen ondernemen om dit probleem aan te pakken.

Ook in Vlaanderen is de kennis rond microplasticvervuiling zeer beperkt. Het doel van deze studie was dan ook om door middel van een eerste monitoring, de aanwezigheid van microplastics in verschillende matrices in kaart te brengen in Vlaanderen. Op basis van de verzamelde stalen kunnen de voornaamste bronnen en transportroutes aangeduid worden en kunnen mogelijke maatregelen, die verontreiniging via deze weg kunnen voorkomen, worden onderzocht.

Om een breed-verkennende studie uit te voeren werden verschillende schakels in de keten van bron naar bestemming onder de loep genomen (Figuur 1). We startten met een onderzoek naar de distributie van microplastics in de Vlaamse waterlopen. Verder onderzochten we een aantal potentieel belangrijke bronnen, transportroutes en de zuivering in rioolwaterzuiveringsinstallaties. In Tabel 1 kan je een overzicht vinden van het aantal stalen die verzameld werden per matrix.

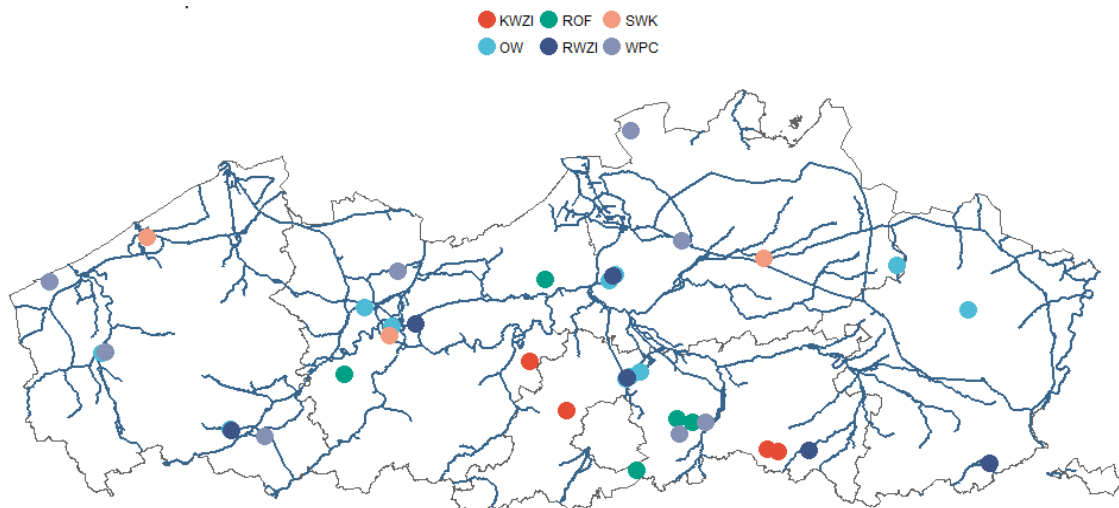


Figuur 1: Schematisch overzicht van de verschillende schakels die belangrijk zijn voor de emissie van microplastics in de omgeving. Vormen die met een dickere kader omlijnd zijn, werden bestudeerd in deze studie.

Een aantal belangrijke opmerkingen bij onze staalname strategie:

- In sommige matrices werden stalen verzameld in droge en natte perioden. Een droge periode definiëren we hier als een 3e dag, na minstens 2 dagen met minder dan 0,2 mm neerslag per dag, waarvan de neerslag op de dag zelf ook minder dan 0,2 mm neerslag per dag bedraagt, tenzij de neerslag pas na het einde van de eigenlijke staalname valt. Een natte periode werd gedefinieerd na een dag met minstens 5 mm neerslag per dag waarbij de neerslag op de staalname dagen minder belangrijk was.
- De staalname strategie werd vastgelegd na een uitgebreide literatuurstudie van de bestaande technieken en methoden per matrix. Voor sommige matrices was nog niet veel literatuur beschikbaar bij het begin van het project, waardoor er tijdens het project een methode ontwikkeld werd. De staalname methode werd geoptimaliseerd per matrix.

- Stalen werden verspreid over heel Vlaanderen genomen (Figuur 2). Per matrix werd een strenge selectie gemaakt van mogelijke locaties om extrapolatie van de gegevens mogelijk te maken. De gehanteerde selectiecriteria worden hieronder per matrix besproken.
- Om de betrouwbaarheid van de data te verhogen werd altijd gewerkt met replicaten (herhaalde staalnames op dezelfde locatie) en/of met het verzamelen van geïntegreerde stalen, die door middel van een combinatie van deelstalen over een langere tijdsperiode werden bekomen.
- De gebruikte analytische methode (Fourier-transformatie infrarood (FTIR) spectroscopie) heeft een detectielimiet van 25 µm in omgevingsstalen, wat wil zeggen dat er geen uitspraken gedaan kunnen worden over deeltjes kleiner dan deze limiet. Onze studie is dus in geen geval geschikt om mogelijke inschattingen te maken over de aanwezigheid van nanoplastics (< 1µm) in de bestudeerde matrices.
- Voor elk verzameld staal werd op hetzelfde moment ook een getuigenstaal verzameld. Dit getuigenstaal dient als reserve en kan gebruikt worden om metingen te valideren in geval van twijfel.
- Voor het spoelen van de recipiënten en gebruikte staalname instrumenten werd gefilterd (0,22 µm poriëgrootte) stadswater gebruikt.



Figuur 2: Geografische verspreiding van de geselecteerde staalname locaties voor verschillende matrices: KWZI: kleinschalige waterzuiveringsinstallatie; ROF: run-off van bandenpartikels; SWK: stadswaterkranen; OW: Oppervlaktewater en sediment in zoetwatermilieus; RWZI: rioolwaterzuiveringsinstallatie; WPC: waterproductiecentra.

In dit deelrapport zullen volgende onderdelen aan bod komen:

- Hoofdstuk 2: Staalname methode met een uitgebreide beschrijving van de selectie van de staalname locaties, de methode voor staalname, het type en aantal stalen.
- Hoofdstuk 3: Verwerking van de stalen in het labo en de analyse om de microplasticconcentratie te bepalen
- Hoofdstuk 4: Kwaliteitscontrole van de stalen
- Hoofdstuk 5: Advies voor toekomstig onderzoek

Alle resultaten en de interpretatie hiervan wordt beschreven in het kernrapport dat terug te vinden is via www.vmm.be/publicaties.

Tabel 1: Overzicht van de verzamelde stalen. In het rood worden additionele stalen weergegeven die niet ingesloten werden in het contract.

	Locaties		Replica's	Tijdstpunten (verschillende dagen)	Totaal # stalen
Oppervlaktewater					
Droge periode	12		3	1	36
Natte periode	8		3	1	24
Sediment					
Test ter indicatie	1		3	1	3
Droge of natte	8		1	1	8
Biota (<i>Chironomus</i> sp.)					
Test ter indicatie variatie	1		3	1	3
Droge of natte periode	8		1	1	8
<i>Gammarus</i> sp.	2		1	1	2
Afvalwater (RWZI's)					
Droge periode	6	x 2 (in- & effluent)	1	3	36
Natte periode	2	x 2 (in- & effluent)	1	2	8
Verwijderde fractie fracties					
Slib	2		1	3	12
Drijfslag	2	x 2 (droog & natte weerperioden)	1	4	16
Zand	1		1	3	6
Autosnelweg					
Run-off	6	(waarvan 1 locatie werd herhaald)	1	3	18
Atmosferische depositie	6		1	1	6
Drinkwater					
Productiecentra	9	(waarvan 1 herhaling)	1	1	9
Particuliere kraan	3		1	1	3
Huishoudelijk afvalwater					
KWZI	4		1	3	12
Totaal					180 + 30

Hoofdstuk 2: Staalname

Verschillende matrices werden bestudeerd in deze studie:

- Distributie van microplastics in zoetwatermilieus in Vlaanderen
 - o Oppervlaktewater en sediment in waterlopen
- Bronnen van microplastics
 - o Huishoudelijk afvalwater
- Transportroutes
 - o Run-off van autostrades en atmosferische depositie
- Zuivering tijdens transport
 - o Zuiveringsrendement in rioolwaterzuiveringsinstallaties (via staalname van influent, effluent en verwijderde fracties in zuiveringsinstallaties)
- Blootstelling van mens en dier aan microplastics
 - o Microplastic concentraties in biota
 - o Microplastic concentratie in het drinkwater

In dit hoofdstuk zullen we per matrix de staalname methodologie bespreken. In bijlage zijn de uitgeschreven, gedetailleerde protocollen per matrix ingesloten.

2.1 Distributie in zoetwatermilieus

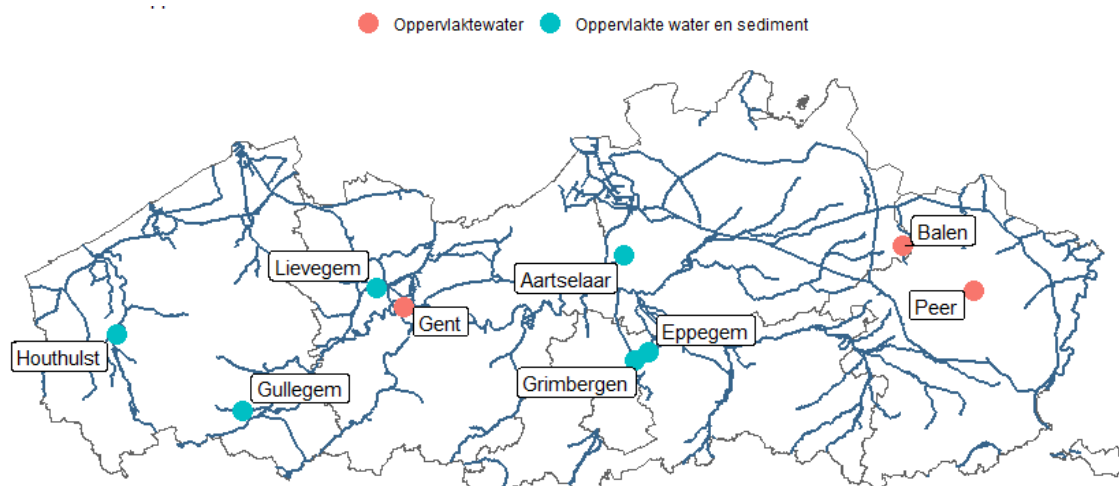
Om de distributie van microplastics in zoetwatermilieus te onderzoeken, werden stalen genomen van oppervlaktewater en sediment in verschillende waterlopen in Vlaanderen.

2.1.1 Locatie van staalname

Er werden stalen verzameld van het oppervlaktewater in 12 waterlopen in Vlaanderen. Deze locaties werden geselecteerd op basis van volgende selectiecriteria:

- Minstens 1 locatie per Vlaamse provincie.
- Verdeling van de staalname locaties over enerzijds ruraal/natuurgebied en anderzijds verstedelijkt gebied.
- Bevaarbare versus onbevaarbare waterlopen
- Aanwezigheid van muggenlarven om een staalname van biota mogelijk te maken voor een inschatting van effecten voor dieren (Sectie 2.4.2).
- Een deel van de staalname locaties werden geselecteerd om de impact van het ontvangen van gezuiverd afvalwater (effluent uit zuiveringsinstallatie) te onderzoeken. Zo werden locaties op- en afwaarts van een rioolwaterzuiveringsinstallatie (RWZI) effluent lozing geselecteerd.

Van de 12 locaties werden er 8 weerhouden om de staalname van oppervlaktewater te herhalen bij nat weer (i.e. dag na een dag met minstens 5 mm neerslag per dag) alsook een bemonstering van het sediment en aanwezige biota (Sectie 2.4.2) (Figuur 3). Alle details van de geselecteerde staalname locaties is te vinden in Tabel 2.



Figuur 3: Geselecteerde staalname locaties voor onderzoek naar de distributie van microplastics in het zoetwatermilieu in Vlaanderen

Tabel 2: Overzicht staalnames voor microplastic concentratie bepaling in oppervlaktewater en sediment in Vlaamse waterlopen

Locatie	VMM code locatie	Breedte- graden (°N)	Lengte- graden (°O)	Waterloop	Weertype	Datum	Staalname Start- en einduur
Lievegem	749200	51,0832	3,6209	Oude_kale	Droog	17/04/2019	
Gent	570010	51,046115	3,704603	Watersportbaan	Droog	24/05/2019	8:45 – 9:30
Aartselaar (Opwaarts RWZI)	204000	51,147541	4,381735	Grote Struisbeek	Droog	18/09/2019	11:00 – 13:00
Aartselaar (Afwaarts RWZI)	203000	51,137307	4,36287	Grote Struisbeek	Droog	18/09/2019	9:15 – 10:30
Balen	262200	51,162914	5,23527	Grote_Nete	Droog	17/05/2019	10:35 – 11:00
Grimbergen (Opwaarts RWZI)	358000	50,945672	4,414038	Tangebeek	Droog	11/09/2019	11:15 – 12:20
Grimbergen (Afwaarts RWZI)	357900	50,949511	4,425026	Tangebeek	Droog	11/09/2019	9:45 – 10:45
Peer	94600	51,074792	5,455907	Dommel	Droog	17/05/2019	9:15 - 9:45
Epegem	345000	50,960401	4,455872	Zenne	Droog	16/12/2019	10:30 - 10:45
Gullegem (opwaarts RWZI)	650900	50,843009	3,217122	Heulebeek	Droog	27/06/2019	11:10 - 12:30
Gullegem (Afwaarts RWZI)	650850	50,841294	3,221038	Heulebeek	Droog	27/06/2019	10:27 - 11:00
Houthulst	934035	50,984794	2,825817	Koevaardeken	Droog	4/12/2019	9:00 - 10:00
Aartselaar (Opwaarts RWZI)	204000	51,147541	4,381735	Grote Struisbeek	Nat	2/10/2019	10:30 - 11:45
Aartselaar (Afwaarts RWZI)	203000	51,137307	4,36287	Grote Struisbeek	Nat	2/10/2019	8:45 - 10:00
Grimbergen (Opwaarts RWZI)	358000	50,945672	4,414038	Tangebeek	Nat	8/11/2019	12:00 - 12:40
Grimbergen (Afwaarts RWZI)	357900	50,949511	4,425026	Tangebeek	Nat	8/11/2019	10:00 - 11:35
Epegem	345000	50,960401	4,455872	Zenne	Nat	13/06/2019	10:50 - 12:20
Gullegem (opwaarts RWZI)	650900	50,843009	3,217122	Heulebeek	Nat	11/12/2019	10:45 - 11:15
Gullegem (Afwaarts RWZI)	650850	50,841294	3,221038	Heulebeek	Nat	11/12/2019	9:50 - 10:25
Houthulst	345000	50,984794	2,825817	Koevaardeken	Nat	28/05/2019	11:00 - 12:45

2.1.2 Staalname methode

Al het nodige materiaal werd specifiek voorbehouden voor dit onderzoek en werd gestockeerd in een aparte propere (zo stofvrij mogelijke) ruimte. Wanneer het materiaal gehanteerd werd, werd steeds een katoenen overall gedragen om contaminatie via kledij te vermijden. De staalname recipiënten (lege flessen en bokalen) werden vooraf in het labo gespoeld met gefilterd water en afgesloten met aluminiumfolie.

Met behulp van een staalname beker gemonteerd op een telescopische arm (Acuradmin, 1 L, tot 3 m), werden ongeveer 10 deelstalen van ± 1 L oppervlaktewater verzameld in een vooraf gespoelde 10 L fles met behulp van een inox trechter. Stalen werden genomen op 1 tot 2 meter van de oever en in de bovenste 0,5 m van het wateroppervlak. Per locatie werden in een tijdsbestek van 15 minuten 3 replicaten van elk 10 L genomen, telkens 1 à 2 m verder stroomopwaarts van elkaar. Het materiaal werd tussenin gespoeld met gefilterd water. De flessen werden afgesloten met aluminiumfolie en naar het labo getransporteerd. Bij ontvangst werden de stalen bewaard op 4°C tot ze verder werden verwerkt.

Voor de staalname van het sediment werd een Van Veen grijper (Van Eijkelkamp, 2 L) gebruikt waarbij 5 tot 10 aparte Van Veen stalen werden geïntegreerd tot 1 staal. De stalen werden opgevangen in een inox emmer en overgebracht naar vooraf gespoelde glazen 4 L bokaal. De bokaal werd afgesloten met aluminiumfolie en naar het labo getransporteerd. Bij ontvangst werden de stalen bewaard bij 4°C tot ze verder werden verwerkt. Het sediment werd, in tegenstelling tot het oppervlaktewater (zowel in een droog als nat weer periode), slechts éénmaal bemonsterd per locatie omdat deze geacht worden minder variabel te zijn in de tijd.

Relevante metadata, zoals informatie over de stroming en samenstelling van het sediment, werd verzameld op de staalname locaties, ingevuld op de metadata fiche en bewaard voor verdere analyse.

2.1.3 Kwaliteitscontrole

Bij het hanteren van de stalen of recipiënten werd steeds een katoenen overall gedragen. Alle recipiënten en het gebruikte materiaal werden voordien of ter plaatse gespoeld met gefilterd stadswater. Om de contaminatie tijdens staalname én verwerking te kunnen inschatten, werd gedestilleerd water (Filters Supor 800 : 0,8µm poriëndiameter, D47mm) gebruikt als controle of blanco staal voor oppervlaktewater. Hiervoor werd een fles met vooraf gefilterd water uitgegoten in een gespoelde inox emmer. Daarna werd dit blanco staal, net zoals de effectieve stalen, via de telescopische staalname beker en de inox trechter in een 10 L fles overgebracht. De fles werd afgesloten met aluminiumfolie en getransporteerd naar het labo.

Voor sediment stalen zijn geen controle stalen beschikbaar. Sediment stalen worden verwacht hogere concentraties microplastics te bevatten waardoor blanco stalen minder noodzakelijk zijn.

2.2 Bronnen van microplastics

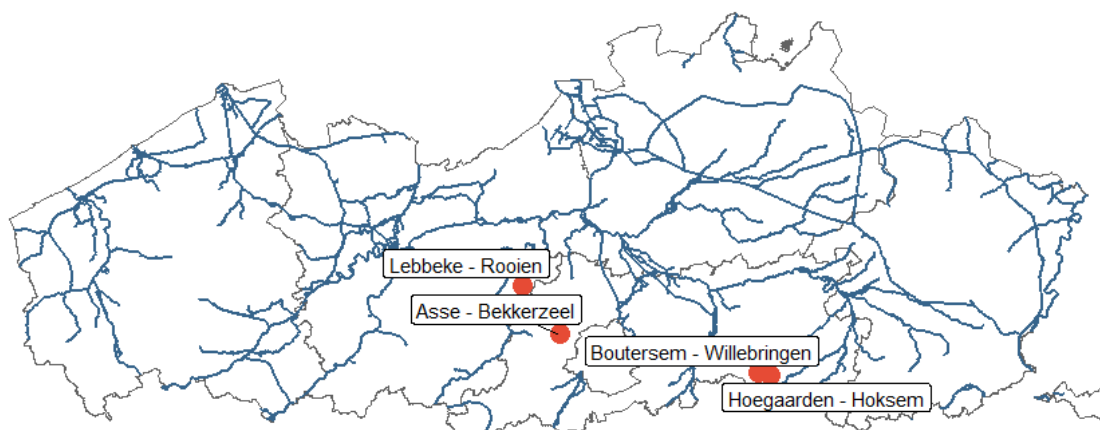
Huishoudelijk afvalwater werd onderzocht door een analyse uit te voeren op het influent van kleinschalige rioolwaterzuiveringsinstallaties (KWZI). Een KWZI verwerkt het afvalwater van 20 – 2000 inwoner equivalenten¹ en krijgt bijna 100 % huishoudelijk afvalwater te verwerken. Door dit hoog aandeel aan huishoudelijk afvalwater kunnen we het afvalwater dat binnenkomt in het influent² van deze installaties als proxy gebruiken om de microplastic concentratie in huishoudelijk afvalwater en per inwoner equivalent te kwantificeren.

2.2.1 Locatie van staalname

De stalen werden verzameld in 4 KWZI's in Vlaanderen (Figuur 4) waarbij meer dan 90% van het water afkomstig is uit huishoudelijke sfeer (Tabel 3). Alle informatie over deze staalnames is terug te vinden in Tabel 4.

¹ Inwoner equivalent (IE) is een meeteenheid die de gemiddelde hoeveelheid afvalwater weergeeft die 1 persoon per dag produceert; <https://www.aquafin.be/nl-be/wat-doen-we/inwonersequivalent-ie>

² Vuil afvalwater dat voor zuivering naar een zuiveringsinstallatie aangevoerd wordt.



Figuur 4: Geselecteerde kleinschalige waterzuiveringsinstallaties voor onderzoek naar de microplastic concentratie in huishoudelijk afvalwater

Tabel 3: Overzicht van het aandeel van de verschillende bronnen in het influent van de vier bemonsterde kleinschalige waterzuiveringsinstallaties.

	Asse - Bekkerzeel	Lebbeke - Rooien	Hoegaarden - Hoksem	Boutersem - Willebringen
Bevolking				
Huishoudens				
Huishoudelijk afvalwater	81,47%	62,52%	88,30%	60,25%
Bodem				
Bodem				
Erosie bodem	2,65%	12,80%	0,48%	5,00%
Depositie				
Depositie				
Atmosferische depositie	1,34%	4,19%	0,44%	4,93%
Handel & diensten				
Gezondheidszorg				
Overige gezondheidszorg	1,12%	0,29%		0,62%
Ziekenhuizen	1,00%	0,14%		
Handel				
Handel	0,67%	0,98%	0,21%	0,18%
Transport & verkeer	0,77%	0,00%		0,09%
Hotels & restaurants				
Eet- en drinkgelegenheden	0,28%	0,29%	0,42%	0,39%
Verschaffen van	0,04%	0,05%		
accommodatie				
Kantoren & administratie				
Kantoren & administratie	0,23%	0,36%		0,26%
Onderwijs				
Onderwijs	0,66%	0,28%	0,23%	0,13%
Overige diensten				
Andere diensten	0,51%	0,83%	0,37%	
Wasserijen	0,27%	0,12%		
Industrie				
Overige industrie				

Vervaardiging andere niet-metaalhoudende minerale producten	0,00%	0,00%		
Vervaardiging producten van rubber of kunststof	0,00%	0,00%	0,22%	
Papier				
Vervaardiging papier- en papierwaren	0,02%	0,00%		
Textiel				
Textiel	0,00%	0,07%		
Voeding				
Vervaardiging van voeding	0,02%	0,35%	0,22%	
Infrastructuur				
Huisvesting en perceelinrichting				
Corrosie gebouw schil	5,70%	12,21%	1,30%	22,38%
Corrosie leidingen	1,95%	1,87%	7,76%	4,74%
Landbouw				
Gewasbescherming				
Gewasbeschermingsmiddelen	0,06%	0,06%	0,00%	0,02%
Uit- en afspoeling landbouwbodems				
Uit- en afspoeling landbouwbodems	0,00%	0,00%		
Transport				
Wegverkeer				
Bandenslijtage	0,93%	2,19%	0,03%	0,82%
Lekkage motorolie	0,26%	0,33%	0,01%	0,16%
Wegdekslijtage	0,05%	0,07%	0,00%	0,04%

a: Het aantal inwonerequivalenten (IE) wordt afgeleid uit het biochemisch zuurstofverbruik (BZV) op basis van 60g BZV/IE dag. De berekeningen zijn gebeurd op metingen in het jaar 2019, en voor Hoegaarden-Hoksem op metingen in het jaar 2020 (bron: WEISS, versie 2019).

2.2.2 Staalname methode

Per KWZI werden drie geïntegreerde 24u-stalen verzameld op 3 opeenvolgende dagen. Een dergelijk staal bestond uit 48 deelstalen van 210 ml die over een tijdspanne van 24u werden genomen (1 staal per 30 minuten) met behulp van een automatische monsternamekast.

Om een omrekening naar emissie mogelijk te maken, werden naast de microplastic metingen ook gegevens verzameld over het debiet van het influent tijdens de staalname campagne. Het debiet werd aangeleverd in een 24-uurs meting en werd herrekend naar de exacte staalname periode (rekening houdend met het start en eind uur van de staalname).

Relevante metadata, zoals het debiet, werd verzameld op de staalname locaties, ingevuld op de metadata fiche en zorgvuldig opgeslagen.

Tabel 4: Informatie rond de staalnames in kleinschalige waterzuiveringsinstallaties (KWZI).

Gemeente	Dorp	Breedte- graad (°N)	Lengte- graad (°O)	Ontvangende- waterloop	IE- VITO	Staalname-Start	Staalname-Einde
Boutersem	Willebringe	50,8091	4,8416	NA	279	23/06/2020 10:30	26/06/2020 10:10
Lebbeke	Rooien	50,9789	4,1209	Steenbeek	35	21/07/2020 11:00	24/07/2020 11:00
Hoegaarden	Hoksem	50,8033	4,8750	Grote Gete	78	23/06/2020 10:10	26/06/2020 10:30
Asse	Bekkerzeel	50,8852	4,2340	Molenbeek	202	21/07/2020 10:00	24/07/2020 10:00

IE = inwoner equivalent

2.2.3 Kwaliteitscontrole

Bij het hanteren van de stalen of recipiënten werd steeds een katoenen overall gedragen. Alle recipiënten en gebruikte materiaal werden voordien of ter plaatse gespoeld met gefilterd stadswater. Om mogelijke contaminatie door achterblijvende partikels in de monsternamekast te minimaliseren werd na iedere staalname campagne een grondig spoelprogramma uitgevoerd (Bijlage). Om mogelijke contaminatie alsnog in rekening te brengen werd er op regelmatige basis (na het uitvoeren van het spoelprogramma) blanco stalen geproduceerd met de monsterkasten. Deze blanco stalen werden geproduceerd door telkens 10 L gefiltreerd stadswater door de monstername kasten te laten bemonsteren.

2.3 Transport van microplastics

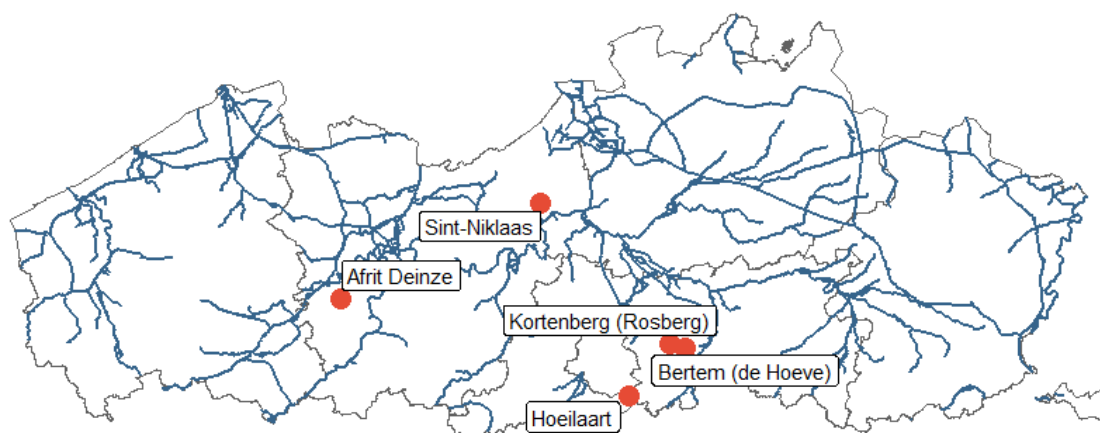
2.3.1 Run-off en atmosferische depositie

Locatie van de staalname

Door het beperkt aantal stalen die voorzien waren voor de staalname van run-off werd in samenspraak met de VMM beslist om te focussen op de run-off van autostrades. Hierbij waren de volgende selectiecriteria van belang:

- Toegankelijkheid: de locaties moeten makkelijk en veilig bereikbaar zijn om de staalname goed te kunnen opvolgen en de recipiënten tijdig te kunnen vervangen.
- Zuiverheid: de locaties moeten een hoog aandeel autosnelweg run-off bevatten. Zo niet zou het staal worden aangelegd met run-off die een andere afkomst heeft (andere verhardingen, akker- of weiland).
- Distributie: Een goede verdeling over de drukste verkeersassen in Vlaanderen. Dit criterium was echter ondergeschikt aan de voorgaande criteria.

Er werden 5 locaties geselecteerd die aan deze criteria voldeden (Figuur 5). Alle informatie van de staalnames is te vinden in Tabel 5.



Figuur 5: Geselecteerde staalname locaties voor onderzoek naar de concentratie microplastics in run-off en atmosferische depositie

Tabel 5: Informatie over de staalname locaties voor microplastic concentratiebepaling in run-off en via atmosferische depositie

Locatie	Autostrade	Breedte- graad (°N)	Lengte- graad (°O)	Oriëntatie	Verhard afstroom oppervlak (m ²)	Start staalname	Einde staalname
Afrit Deinze	E17	50,953238	3,562829	ZW-NO	19840	8/02/2020 8:15	27/02/2020 11:00
Bertem (de Hoeve)	E40	50,860802	4,615663	W-O	104400	4/02/2020 13:30	21/02/2020 14:00
Kortenberg (Rosberg)	E40	50,868920	4,567929	W-O & O-W	29170	5/02/2020 10:00	21/02/2020 13:00
Sint-Niklaas	E17	51,139750	4,170410	ZW-NO	24400	20/02/2020 18:35	25/02/2020 20:50
Kortenberg (Rosberg)	E40	50,868920	4,567929	W-O & O-W	29170	27/04/2020 13:00	09/07/2020 10:00
Hoeilaart	R0 buitenring Brussel	50,768709	4,445280	ZZW-NN0	28500	2/10/2020 11:00	08/10/2020 13:00

Staalname methode

Voor deze staalname werd een ISCO-monsternametoestel gebruikt dat geactiveerd werd bij regenweer (o.b.v. hoogtesensor of pluviometer). Het toestel collecteert run-off uit het afwateringssysteem van de autosnelwegen aan de hand van 500 ml substalen met tussenperiodes van minstens 15 minuten. In totaal werd zo 9,5 L bemonsterd in een vooraf gespoelde 10 L fles. Per locatie werden drie stalen achtereenvolgend verzameld. De fles werd afgesloten met aluminiumfolie tussen flessenhals en dop en naar het labo getransporteerd. Bij ontvangst werden de stalen bewaard bij 4°C tot ze verder werden verwerkt.

Voor het inschatten van de microplastic concentratie in de atmosfeer en de atmosferische depositie ervan werd een vooraf gespoelde 10 L fles met een inox trechter vlak bij de run-off opstelling gezet. De trechter werd op regelmatige basis gespoeld met gefilterd water en werd gedurende de volledige staalname periode van de drie achtereenvolgend bemonsterde run-off stalen gebruikt. Het spoel- en regenwater die in de trechter vallen, worden verwacht microplastic deeltjes, die door atmosferische depositie in de trechter vielen, mee te spoelen. Na de staalname werd de trechter grondig gespoeld

met gefilterd water en verwijderd. De fles werd afgesloten met aluminiumfolie tussen flessenhals en dop en naar het labo getransporteerd. Bij ontvangst werden de stalen bewaard bij 4°C tot ze verder werden verwerkt.

Relevante metadata, zoals de neerslag, werd verzameld op de staalname locaties, ingevuld op de metadata fiche en zorgvuldig opgeslagen voor verdere analyse.

Kwaliteitscontrole

Bij hanteren van de stalen of recipiënten werd steeds een katoenen overall gedragen. Alle recipiënten en gebruikte materialen werden voordien of ter plaatse gespoeld met gefilterd stadswater. Om mogelijke contaminatie door achterblijvende partikels in de monsternamekast te minimaliseren werd na iedere staalname campagne een grondig spoelprogramma uitgevoerd (Bijlage). Om mogelijke contaminatie alsnog in rekening te brengen werd er op regelmatige basis (na het uitvoeren van het spoelprogramma) blanco stalen geproduceerd met het monsternametoestel. Deze blanco stalen werden geproduceerd door telkens 10 L gefiltreerd stadswater door de monstername kasten te laten bemonsteren. Voor de atmosferische depositie staalnames konden geen blanco stalen geproduceerd worden.

2.3.2 Zuivering tijdens transport - rioolwaterzuiveringsinstallaties

Locatie van staalname

De selectie van de te bemonsteren RWZI's heeft als doel om de uiteindelijke resultaten (i.e. concentraties en verwijderingsrendement) zoveel mogelijk te kunnen extrapoleren naar andere RWZI's. De geselecteerde RWZI's staan dus model voor het "standaardtype" RWZI in Vlaanderen. De meest voorkomende manier van afvalwaterbehandeling is m.b.v. actief slib dat in staat is stikstof en fosfor te verwijderen (zogenaamde tertiaire waterzuivering). De biologische fosforverwijdering wordt echter veelal gedeeltelijk of volledig vervangen door een chemische fosforverwijdering. Door in de selectie slechts een lage industriële belading toe te laten, die uiteenlopende microplastic emissies met zich zou brengen, zou een koppeling naar aangesloten inwoner equivalenten (IE) beter mogelijk moeten zijn.

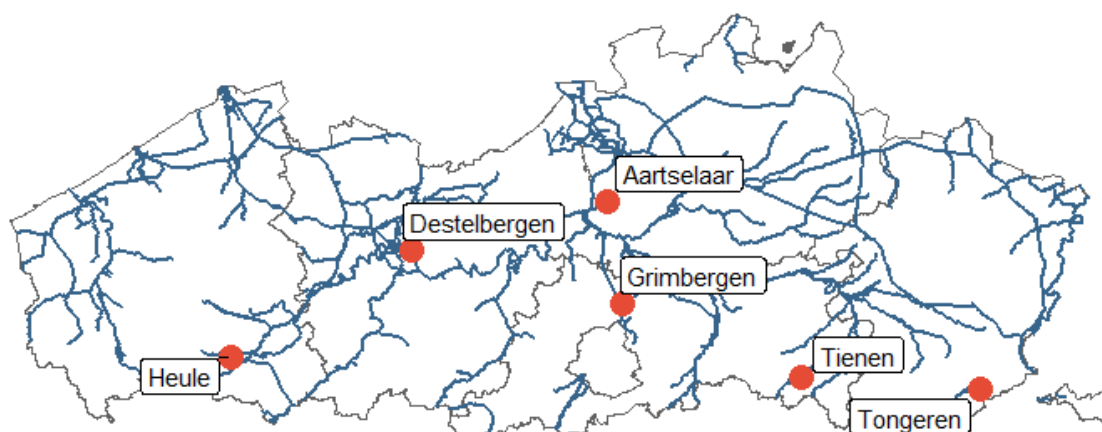
Andere selectiecriteria voor de keuze van de te bemonsteren RWZI's zijn:

- Spreiding over Vlaanderen.
- Voorkeur voor goede toegankelijkheid en/of permanente bemanning.
- Geen verdund en zeer sterk verdund afvalwater (grondwater infiltratie) .
- RWZI met capaciteit > 5000 inwoner equivalenten (IE). Grotere installaties met een hoger debiet en belasting zouden realistischere inschattingen naar influent concentraties moeten geven. Dit gezien er meer uitmiddeling is van eventuele sterke lokale emissies. Ook de mogelijke koppeling naar aangesloten IE zou hierdoor realistischer moeten zijn.
- Geen of relatief weinig slib nabehandeling. Anders wordt er namelijk dikwijls slib van andere installaties aangevoerd om mee te behandelen. Het water die uit deze nabehandelingstappen komt wordt terug verwerkt in de RWZI installatie wat de inschatting van de emissie per IE van de desbetreffende RWZI kan verstoren.
- Een maximum aandeel van 10% industrie.
- Aanwezige opportuniteiten zoals eerder uitgevoerde microplastic meetcampagnes of meetcampagnes van andere chemicaliën.

Op basis van bovenstaande selectiecriteria werden, in overleg met enkele VMM experts, 6 Vlaamse RWZI's geselecteerd (Tabel 6 en Figuur 6). Alle informatie over de geselecteerde RWZI's en de staalname is te vinden in Tabel 7.

Tabel 6: Geselecteerde rioolwaterzuiveringsinstallaties (RWZI) met vermelding van de waterlopen (en hun stroomgebied) waarin het effluent geloosd wordt.

Installatie	Ontvangende waterlopen
RWZI Aartselaar	Grote Struisbeek -> Benedenvliet -> Schelde
RWZI Destelbergen	Zeeschelde
RWZI Grimbergen	Tangebeek -> Zenne -> Dijle -> Rupel -> Schelde
RWZI Heule	Heulebeek -> Leie
RWZI Tongeren	Jeker -> Maas
RWZI Tienen	Grote Gete -> Gete -> Demer -> Dijle -> Rupel -> Schelde



Figuur 6: Geselecteerde staalname locaties om de concentraties microplastics te onderzoeken in rioolwaterzuiveringsinstallaties

Tabel 7: Informatie staalnames in rioolwaterzuiveringsinstallaties

RWZI-Locatie	Breedte- graad (°N)	Lengte- graad (°O)	Weertype	Ontvangende- waterloop	IE	Staalname- Start	Staalname- Einde
Grimbergen	50,949128	4,418833	Droog	Tangebeek	65388	9/09/2019 12:00	12/09/2019 10:15
Grimbergen^a	50,949128	4,418833	Nat	Tangebeek	65388	6/11/2019 10:45	14/11/2019 10:00
Heule	50,839205	3,221405	Droog	Heulebeek	7596	25/06/2020 9:00	28/06/2020 9:30
Tienen	50,805596	4,967604	Droog	Grote Gete	23075	19/08/2019 11:01	22/08/2019 10:50
Aartselaar	51,145737	4,375463	Droog	Grote Struisbeek - Benedenvliet	48810	16/09/2019 11:30	19/09/2019 11:00
Aartselaar	51,145737	4,375463	Nat	Grote Struisbeek - Benedenvliet	48810	30/09/2019 11:00	3/10/2019 11:20
Destelbergen	51,050900	3,775010	Droog	Zeeschelde	23561	4/06/2019 9:00	7/06/2019 9:00
Tongeren	50,776011	5,510114	Droog	Jeker	9531	22/07/2019 11:15	25/07/2019 11:30

^a Geen aaneengesloten campagne; staalname van 6/11/2020 tot 8/11/2020 en van 13/11/2020 tot 14/11/2020
IE: inwoner equivalent

Voor de bemonstering van afvalwater in RWZI's werd voornamelijk gefocust op de droog-weersituatie. Bij droog weer wordt namelijk de variatie tussen verschillende RWZI's in zake microplastic concentraties in het influent en de verwijderingsefficiëntie lager ingeschat. De selectiecriteria voor de keuze van zes RWZI's die bij droog weer bemonsterd worden, worden hieronder verder besproken. Van deze zes RWZI's werden er twee geselecteerd (RWZI-Aartselaar en RWZI-Grimbergen) die tevens bij nat weer werden bemonsterd en waarbij ook stalen van de verschillende verwijderde fracties (zand, slib en drijfslaag) werden genomen. Alle informatie over de staalname werd samengevat in Tabel 7.

Staalname methode

Influent en effluent stalen

Influent en effluent stalen werden op dezelfde manier verzameld zoals beschreven bij de staalname voor huishoudelijk afval. Er werd per campagne gedurende 3 opeenvolgende dagen een geïntegreerd 24u-staal genomen met behulp van een automatische monsternamen. Zo werden er gedurende 24u elke 30 minuten een 210 ml staal van het influent of effluent verzameld en werden deze geïntegreerd tot één 10 L staal (per staalname dag). In RWZI-Aartselaar en RWZI-Grimbergen werd er zowel een campagne uitgevoerd bij droog als bij nat weer (Tabel 7). De stalen werden verzameld in vooraf gespoelde 10 L flessen, afgesloten met aluminiumfolie en getransporteerd naar het labo. Bij ontvangst werden de stalen bewaard bij 4°C tot ze verder werden verwerkt.

Relevante metadata werd verzameld op de staalname locaties, ingevuld op de metadata fiche en zorgvuldig opgeslagen voor verdere analyse.

Verwijderde fractie

Bij twee geselecteerde RWZI's, RWZI-Aartselaar en RWZI-Grimbergen, werden extra stalen verzameld van de verwijderde fractie (slib, zand en drijfslaag). Met deze stalen kan een stroom-analyse opgesteld worden van de microplastics in de zuiveringsinstallatie (Deelrapport 3, www.vmm.be/publicaties).

Slib

Op het einde van elke staalname dag werd een ingedikt slibstaal verzameld met behulp van een metalen schep. Ongeveer 5 L werd verzameld in een inox emmer, gehomogeniseerd en hiervan werd telkens 2 L in bokalen overgebracht. De bokalen werden afgesloten met aluminiumfolie en getransporteerd naar het labo. Bij ontvangst werden de stalen bewaard bij 4°C tot ze verder werden verwerkt.

Zand

Op het einde van elke staalname dag (in de laatste 2u) werd het verwijderde zand bemonsterd. In de container waarin het zand werd opgevangen werden op verschillende plaatsen deelstalen genomen die werden opgevangen in een inox bak. Dit zand werd gehomogeniseerd en met een metalen schep overgebracht naar 2 L bokalen. Daarnaast werd het totaal verwijderde volume ingeschat en werd de densiteit van dit zand bepaald (d.m.v. het wegen van een gekend volume). De bokalen werden afgesloten met aluminiumfolie en getransporteerd naar het labo. Bij ontvangst werden de stalen bewaard bij 4°C tot ze verder werden verwerkt.

Drijfslag

Bij de start en het einde van elke staalname dag werd een drijfslag staal verzameld. Hiervoor werd de drijfslag fractie die zich in het verzamelvierkant van de afschraper bevond met behulp van een planktonnet (Hydro-Bios, poriegrootte 10 µm) bemonsterd. De fractie die werd verzameld in het planktonnet werd in een vooraf gespoelde glazen 4 L bokaal gestort. De volledige drijfslag van één rondgang van de schraper werd zo verzameld als 1 staal. De bokalen werden afgesloten met aluminiumfolie en getransporteerd naar het labo. Bij ontvangst in het labo werden de stalen bewaard bij 4°C tot ze verder werden verwerkt.

Kwaliteitscontrole

Bij hanteren van de stalen of recipiënten werd steeds een katoenen overall gedragen. Alle recipiënten en gebruikte materiaal werden voordien of ter plaatse gespoeld met gefilterd stadswater. Om mogelijke contaminatie door achterblijvende partikels in de monsternamekast, bij de staalname van RWZI influent en effluent, te minimaliseren werd na iedere staalname campagne een grondig spoelprogramma uitgevoerd. Om de mogelijke contaminatie alsnog in rekening te brengen werd er op regelmatige basis (na het uitvoeren van het spoelprogramma) blanco stalen geproduceerd met de monsterkasten. Deze blanco stalen werden geproduceerd door telkens 10 L gefiltreerd stadswater door de monstername kasten te laten bemonsteren.

Voor de verwijderde fractie werden geen blanco stalen verzameld behalve voor de drijfslag. Daarbij werd 1 L gefilterd water door het netje gegoten. Het opgevangen water werd gecollecteerd en in een 4 L bokaal gestort. Hierna werd het netje op een gelijkaardige manier afgespoeld zoals de stalen.

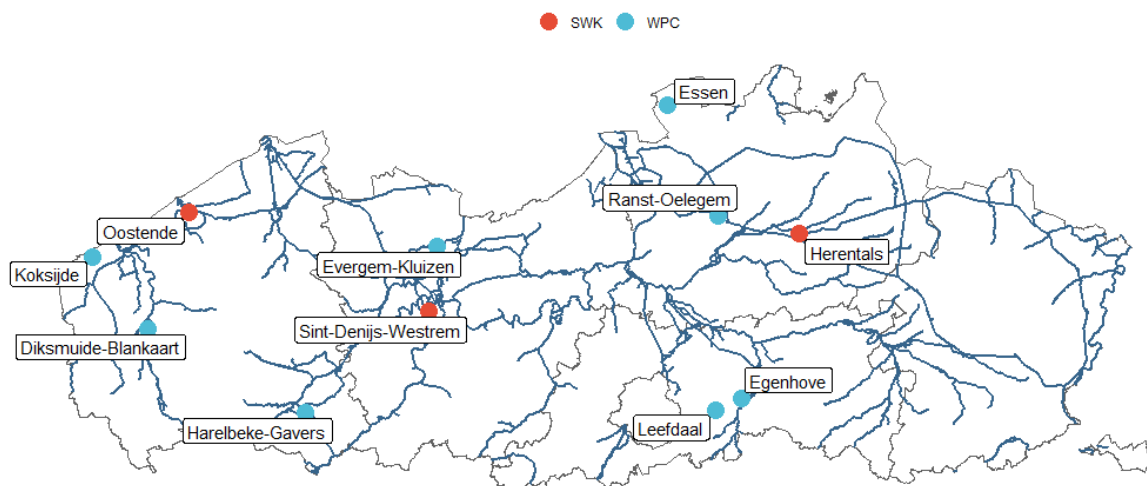
2.4 Blootstelling aan microplastics van mens en dier

2.4.1 Drinkwater

Locatie van staalname

Voor dit onderdeel werden 8 drinkwaterproductiecentra (WPC), verspreid over Vlaanderen, geselecteerd (Figuur 7). Bij de selectie werd rekening gehouden met de bron van het water dat gezuiverd zou worden tot drinkwater. Zowel WPC's die gebruik maken van grondwater als van oppervlaktewater werden ingesloten. Er werden ook stalen verzameld in WPC in Torreele waar men gebruik maakt van gezuiverd afvalwater (effluent RWZI) om, na extra zuiveringsstappen (o.a. infiltratie in de bodem), drinkwater te produceren. Informatie over de staalnamelocatie kan teruggevonden worden in Tabel 8.

Bijkomend werden ook op 3 locaties stalen genomen aan stadswaterkranen (SWK) (Figuur 7, Tabel 8).



Figuur 7: Geselecteerde staalname locaties voor concentratie bepaling in drinkwater in waterproductiecentra (WPC) en aan stadswaterkranen (SWK)

Tabel 8: Informatie rond de staalnames voor microplastic bepaling in drinkwater (waterproductiecentra (WPC) en stadswaterkranen (SWK))

Bron sample	Locatie	Breedte graad (°N)	Lengtegraad (°O)	Bron water	Datum	Staalname Start en eind uur
WPC	Essen	51,4272	4,42956	GW (Diep)	31/01/2020	11:50 - 13:00
WPC	Evergem - Kluizen	51,1538	3,72092	OW	10/02/2020	10:04 - 12:05
WPC	Egenhove	50,8616	4,65406	GW (Ondiep zonder zuivering)	22/01/2020	9:15 - 11:45
WPC	Ranst - Oelegem	51,2130	4,58311	OW	14/02/2020	10:20 - 12:20
WPC	Leefdaal - Puttebos	50,8384	4,57556	GW (Ondiep met zuivering)	17/01/2019	11:10 - 12:26
WPC	Diksmuide - Blankaert	50,9870	2,83743	OW	18/02/2020	10:15 - 11:50
WPC	Harelbeke - De Gavers	50,8303	3,32310	OW	19/02/2020	9:30 - 11:20
WPC	Koksijde - Torreele	51,1222	2,66041	RWZI (Insijpelen en filtratie)	24/01/2020	9:30 - 10:35
WPC	Koksijde	51,1222	2,66041	RWZI (Insijpelen en filtratie)	26/02/2020	8:15 - 9:40
SWK	Sint-Denijs-Westrem	51,0278	3,69702	GW	31/01/2020	11:10 - 12:26
SWK	Oostende	51,2116	2,95459	NB	21/02/2020	9:15 - 11:45
SWK	Herentals	51,1793	4,83453	GW	6/03/2020	9:30 - 10:35

GW: grondwater; OW: oppervlaktewater; RWZI: rioolwaterzuiveringsinstallatie; NB: Niet beschikbaar

Staalname methode

Ongeveer 300 L water werd gefilterd over een cellulose nitraat membraanfilter met poriegrootte 8µm voor minstens één uur lang. Deze membraanfilter werd ingesloten in een filtratiesysteem bestaande uit roest vrij staal die m.b.v. tubing aangesloten werd op een uitgaande waterleiding van het WPC. Met een debietmeter werd informatie over het debiet en de druk op de kraan verzameld, en werd ook het bemonsterde volume bepaald. Na de staalname werden de stalen (zijnde de membraanfilters) bewaard in glazen pertriplateetjes, vervolgens verpakt in aluminiumfolie en getransporteerd naar het labo. Bij ontvangst in het labo werden de stalen bewaard bij -20°C tot ze verder werden verwerkt.

Relevante metadata werd verzameld op de staalname locaties, ingevuld op de metadata fiche en zorgvuldig opgeslagen voor verdere analyse.

Kwaliteitscontrole

Bij hanteren van de stalen of recipiënten werd steeds een katoenen overall gedragen. Alle recipiënten en gebruikte materiaal werden voordien gespoeld met gefilterd stadswater. Nadat de staalname opstelling werd geïnstalleerd, werd ze eerst voorgespoeld met het te bemonsteren water (zonder filter). Voor de productie van blanco stalen werd altijd een identieke opstelling in serie geplaatst. De filter in deze blanco opstelling filterde, bijgevolg, het water dat reeds gefilterd was door de eigenlijke staalname filter. Microplastics die op deze blanco filter terug gevonden werden, kunnen dus enkel afkomstig zijn van contaminatie.

2.4.2 Biota

Locatie van staalname

Deze stalen werden verzameld op dezelfde locaties als de staalname van oppervlaktewater en sedimenten (Sectie 2.1). Op zes locaties (Figuur 3; zelfde locaties als locaties voor staalname van

sediment) verspreid over Vlaanderen werd biota bemonsterd (zelfde staalname locaties als de locaties voor sediment staalname) en geanalyseerd om de microplastic concentraties te bepalen. Alle informatie over de staalname werd samengevat in Tabel 9.

Tabel 9: Informatie staalname microplastic bepaling in biota

Locatie	Breedte- graad (°N)	Lengte- graad (°O)	Waterloop	Weertype	Datum	Staalname Start- en einduur
Lievegem	51,0832	3,6209	Oude_kale	Droog	17/04/2019	
Aartselaar (Opwaarts RWZI)	51,147541	4,381735	Grote Struisbeek	Droog	18/09/2019	11:00 – 13:00
Aartselaar (Afwaarts RWZI)	51,137307	4,36287	Grote Struisbeek	Droog	18/09/2019	9:15 – 10:30
Grimbergen (Opwaarts RWZI)	50,945672	4,414038	Tangebeek	Droog	11/09/2019	11:15 – 12:20
Grimbergen (Afwaarts RWZI)	50,949511	4,425026	Tangebeek	Droog	11/09/2019	9:45 – 10:45
Gullegem (Opwaarts RWZI)	50,843009	3,217122	Heulebeek	Droog	27/06/2019	11:10 - 12:30
Gullegem (Afwaarts RWZI)	50,841294	3,221038	Heulebeek	Droog	27/06/2019	10:27 - 11:00
Eppegem	50,960401	4,455872	Zenne	Nat	13/06/2019	10:50 - 12:20
Houthulst	50,984794	2,825817	Koevaardeken	Nat	28/05/2019	11:00 - 12:45

Staalname methode

In deze studie werd gekozen voor rode (dans)muggenlarven (*Chironomus* spp.), omwille van hun algemene verspreiding en brede habitatvoorkeur en omdat het één van de meest dominante benthische groepen vertegenwoordigd. Daarnaast werd op 1 locatie (Grote Struisbeek, Aartselaar) ook in vlokreeftjes (*Gammarus* spp.) naar de aanwezigheid van microplastic gezocht. Benthische zoetwater arthropoden verdienen speciale aandacht in het microplastic onderzoek omdat deze groepen organismen potentieel blootgesteld worden aan hoge microplastics concentraties in sedimenten. Stalen voor biota analyse werden, afhankelijk van de diepte van de waterloop, verzameld met behulp van een BBI staalname net (poriegrootte 500 µm) of een Van Veen grijper (Van Eijkelkamp, 2 L). Het opgevangen materiaal werd overgebracht naar een inox emmer (12 L) tot de emmer voldoende gevuld was. De emmer werd vervolgens afgesloten met een inox deksel en tape en op deze manier naar het labo getransporteerd (gekoeld 4-10°C). Binnen de 24u na ontvangst werden de organismen geëxtraheerd, gespoeld in gefilterd stadswater en vervolgens droog bewaard bij -20°C tot ze verder werden verwerkt. Uit deze biota-stalen werden (idealiter) 50 muggenlarven of 30 vlokreeftjes per staal gebruikt voor analyse (digestie en extractie).

Relevante metadata werd verzameld op de staalname locaties, ingevuld op de metadata fiche en zorgvuldig opgeslagen voor verdere analyse.

Kwaliteitscontrole

Bij hanteren van de stalen of recipiënten werd steeds een katoenen overall gedragen. Alle recipiënten en gebruikte materiaal werden voordien of ter plaatse gespoeld met gefilterd stadswater. Als blanco controle werd de handeling van het uitpikken van organismen nagebootst.

Hoofdstuk 3: Microplastic bepaling in de stalen

3.1 Extractie van microplastics

Om contaminatie te verminderen, werden gedurende de extractie van microplastics verschillende belangrijke voorzorgsmaatregelen genomen, gecategoriseerd onder de zogenaamde '*good field and laboratory practices*' (GLP). Meer informatie hierover is terug te vinden in Hoofdstuk 4.

De extractieprotocollen van microplastics uit omgevingsstalen bestaan uit drie belangrijke onderdelen:

- Digestie van het aanwezige organisch materiaal (vaak in 2 stappen)
- Densiteitsscheiding om plastics van sediment of andere partikels te scheiden
- Filtratie van het waterige medium

Afhankelijk van het type matrix (waterige stalen, sediment, filters,...) zal de behandeling licht verschillen.

3.1.1 Waterige stalen

Als eerste verwerkingsstap voor waterige stalen (influent (± 2 L), effluent (± 10 L), oppervlaktewater (± 10 L) en drijfslag (± 3 L maar substaal van ± 200 -500 ml) werd steeds kaliumhydroxide (KOH, AnalaR NORMAPUR, VWR) toegevoegd voor vertering van het aanwezige organisch materiaal (gebaseerd op Thiele et al., 2019). De hoeveelheid KOH die toegevoegd werd is afhankelijk van het volume van het staal (bv: 50 g KOH voor 10 L stalen, 20 g KOH voor 2 L stalen). De stalen met toegevoegd KOH werden op een verwarmplaat (PZ44, GESTIGKEIT HARRY) van 60°C geplaatst gedurende 48 uur.

Na digestie werd het bovenstaande water gefiltreerd over een cellulose nitraat filter (poriegrootte: 8,0 μ m, Whatman AE99). Het bezinksel en naspoelwater van het staal werden overgebracht in een voorgespoelde polypropyleen conische centrifugetube van 200 ml (Thermo Scientific Nunc) en vervolgens gecentrifugeerd (megafuge 40R, Thermo Scientific) op 3500 toeren per minuut (RPM) gedurende 5 minuten. Het bovenstaande water uit de centrifugetube werd opnieuw gefiltreerd over de cellulose nitraat filter. De pellet werd vervolgens aangelengd met 150 ml natriumjodide (NaI, GPR RECTAPUR, VWR), in oplossing gebracht en opnieuw gecentrifugeerd met dezelfde instellingen (3500 RPM, 5 min) om de aanwezige microplastics in het staal te scheiden van de densere, resterende anorganische fractie gebaseerd op Van Cauwenberghe et al., (2013a, 2013b). Het supernatans werd opnieuw gefiltreerd over een cellulose nitraat filter. De densiteitsscheiding met NaI werd nog twee maal herhaald, maar bij de laatste centrifugatie-stap werd de rotatiesnelheid verhoogd tot 4200 RPM. De cellulose filter(s) werden in een glazen beker aangelengd met KOH (50 ml per filter) en vervolgens in een warmwaterbad (Memmert WTB) op 60°C geplaatst, gedurende 24 uur, om de cellulosefilter(s) te digesteren. De bekomen oplossing werd vervolgens gefiltreerd over een polytetrafluoroethyleen (PTFE) filter (poriegrootte: 10,0 μ m, Omnipore Membrane filter, Merck) via een glazen filtreersysteem. Zowel de maatbeker als het filtreersysteem werden drie keer nagespoeld met gefilterd gedesioniseerd water en één keer met een 0,1% Tween® 80 oplossing. Dit spoelwater werd opgevangen door dezelfde PTFE filter. Vervolgens werd de filter op kamertemperatuur gedroogd gedurende 24h in een stofvrije omgeving.

Voor de run-off en de atmosferische depositie stalen werd een afzonderlijke strategie toegepast gezien de rubberpartikels niet geïdentificeerd kunnen worden door de FTIR. Aan elk staal (± 10 L) werd steeds 50 g kaliumhydroxide (KOH, AnalaR NORMAPUR, VWR) toegevoegd voor vertering van het aanwezige organisch materiaal (gebaseerd op Thiele et al., 2019). De stalen met toegevoegd KOH werden op een verwarmplaat (PZ44, Gestigheit Harry) van 60°C geplaatst gedurende 48 uur. Na digestie werd het bovenstaande water gefiltreerd over een cellulose nitraat filter (poriegrootte: 8,0 μ m, Whatman AE99) en verder behandeld alsof het om een oppervlaktewaterstaal zou gaan en tot slot geanalyseerd door het FTIR toestel om het aantal microplastics in kaart te brengen. Het bezinksel (de bezonken

rubberpartikels) werd voor elk staal vervolgens gedroogd in een oven (VWR, VENTI-Line 112 Prime) op 60°C gedurende ongeveer 72u.

Uit de resulterende droge stof, werd vervolgens een substaal genomen (5 mg) om rubber partikels te identificeren en kwantificeren via de pyrolyse-gaschromatografie-massaspectrometrie (Pyr-GC/MS) methode. De Pyr-GC/MS (RIC BV, Kortrijk) was uitgerust met de pyrolyzer Thermal Desorption Unit (TDU-P, Gerstel) voor pyrolyse van de stalen (700 °C, 30 s). Een auto-shot sampler AS-1020E werd aan de pyrolyzer bevestigd en gekoppeld aan een Agilent 7890 gaschromatograaf gecombineerd met een Agilent MSD 5977 massaspectrometer. De split/splitless injector werd bedreven bij 250 °C met een split ratio van 1:50. De pyrolysaten werden gescheiden op een 30 m × 0,25 mm x 1 µm HP-1MS-kolom (Agilent). De helium draaggasstroom werd ingesteld op een constante flow van 1.5 ml per minuut. De gaschromatograaf (GC) oven werd geprogrammeerd van 40 °C (5 min hold) tot 300 °C (1 min hold) met een toename van de temperatuur van 10°C per minuut. De transferleiding die de GC met de MS verbond, werd op 280 °C gehouden, en de MS opereerde in de range 29 tot 350 amu. De MS-ionen bron (elektronenionisatie, 70 eV) werd verwarmd tot 230 °C. Gebaseerd op 4 verschillende referentiestalen werd een eerste test uitgevoerd, op basis van 18 gedetecteerde merkers kon de concentratie rubber in de stalen ingeschat worden. Op basis van het pyrogram kan geen onderscheid gemaakt worden tussen natuurlijk rubber en synthetisch rubber en dus is geen onderscheid tussen banden afkomstig van personenwagens en vrachtwagens mogelijk.

3.1.2 Sediment stalen

Van elk sediment-, zand- en slibstaal werd een substaal (± 20 g natgewicht) genomen na homogenisatie. Eerst werd de glazen bokaal met het volledige staal grondig geschud. Vervolgens werd het staal, met behulp van een metalen lepel, manueel gemengd om homogeniteit zo veel mogelijk te garanderen, ook bij stalen die niet heel vloeibaar waren. Aansluitend op het homogeniseren werd ongeveer 20 gram van het homogene staal overgebracht in een maatbeker en stapsgewijs (per 25 ml) aangelengd met 200 ml waterstofperoxide H₂O₂ (30%, Ph.Eur, VWR) .

Vervolgens werd het staal eerst gedurende 24 uur op kamertemperatuur gehouden en nadien voor 24 uur in een warmwaterbad (Memmert WTB) van 60°C geplaatst om digestie van het organisch materiaal te stimuleren (gebaseerd op Claessens et al., 2011; Thiele et al., 2019, 2019; Van Cauwenberghe et al., 2015; Van Cauwenberghe and Janssen, 2014; Van Echelpoel, 2014). Na digestie werd het bovenstaande water gefiltreerd over een cellulose nitraat filter (poriegrootte: 8,0 µm, Whatman AE99). Aan het resterende bezinksel werd additioneel 25 ml 69% salpeterzuur HNO₃ (Supelco®, Merck) toegevoegd voor één uur op kamertemperatuur (gebaseerd op Claessens et al., 2013; Nel et al., 2018). Het bezinksel met zuur en naspoelwater van het staal werden nadien met een glazen trechter overgebracht in een voorgespoelde polypropyleen conische centrifugetube van 200 ml (Thermo Scientific Nunc) en vervolgens gecentrifugeerd op 3500 RPM gedurende 5 minuten (Megafuge 40R, Thermo Scientific). Het supernatans uit de centrifugetube werd opnieuw gefiltreerd over een cellulose nitraat filter (poriegrootte 8 µm).

De pellet werd vervolgens aangelengd met 150 ml natriumjodide (NaI; GPR RECTAPUR, VWR), gehomogeniseerd en opnieuw gecentrifugeerd met dezelfde instellingen (3500 RPM, 5 min) om de aanwezige microplastics in het staal te extraheren van de resterende anorganische fractie (gebaseerd op Van Cauwenberghe et al., 2013a, 2013b). Het supernatans werd opnieuw gefiltreerd op een cellulose nitraat filter. De densiteitsscheiding met NaI werd nog tweemaal herhaald, maar bij de laatste centrifugatiestap werd de rotatiesnelheid verhoogd tot 4200 RPM.

De bekomen cellulose nitraat filters werden vervolgens verteerd door KOH (AnalaR NORMAPUR, VWR, 50ml per filter, 24h, 60°C). De bekomen oplossing werd vervolgens gezeefd (15 µm) met behulp van een PVC zeef (gebaseerd op Van Echelpoel, 2014). De fractie groter dan 15 µm werd in een conische centrifugetube van 50 ml (Nerbeplus) aangelengd met 40 ml NaI en nogmaals gecentrifugeerd (3500 RPM, 5 min). Tot slot werd het supernatans gefiltreerd over een PTFE filter (poriegrootte 10,0 µm,

Omnipore Membrane filter, Merck) via een glazen filtreersysteem. Zowel de maatbeker als het filtreersysteem werden drie keer nagespoeld met gedesoniseerd water en één keer met een 0,1% Tween® 80 oplossing. Vervolgens werd de filter op kamertemperatuur gedroogd gedurende 24h in een stofvrije omgeving.

3.1.3 Drinkwaterstalen

Voor de drinkwaterstalen, werden de afgeleverde cellulose nitraatfilters met toevoeging van 50 ml KOH (AnalaR NORMAPUR, VWR) gedurende 48 uur op een verwarmplaat (PZ44 GESTIGHEIT HARRY) van 60°C geplaatst om de cellulosefilter(s) te verteren. Indien noodzakelijk (door te grote neerslag van anorganische componenten) werd additioneel een densiteitsscheiding uitgevoerd met NaI (GPR RECTAPUR, VWR), zoals beschreven in de behandeling van oppervlaktewaterstalen. De bekomen oplossing werd vervolgens gefiltreerd over een PTFE filter (poriegrootte 10,0 µm, Omnipore membrane filter, Merck) via een glazen filtreersysteem. Zowel de maatbeker als het filtreersysteem werden drie keer nagespoeld met gedesoniseerd water en één keer met een 0,1% Tween® 80 oplossing, waarvan het spoelwater ook werd opgevangen door dezelfde PTFE filter. Vervolgens werd de filter op kamertemperatuur gedroogd gedurende 24h in een stofvrije omgeving.

3.1.4 Biota

Uit de biota-stalen werden de rode muggenlarven (*Chironomus* sp.) en *Gammarus* sp. geselecteerd met een pincet en overgebracht in een maatbeker met gefilterd leidingwater. Vervolgens werd een gekend aantal larven (idealiter 50 per staal) overgebracht naar een vooraf gewogen tabletflasje, waarna deze opnieuw gewogen werden. De tabletflases werden bewaard op -20°C tot digestie. Voor de digestie, werden de muggenlarven in een maatbeker van 250 ml gebracht en werd het tabletflasje vier keer nagespoeld met 25ml H₂O₂ (30 %, Ph.Eur, VWR), wat vervolgens werd toegevoegd aan de maatbeker. De maatbeker werd gedurende 24 uur in een warmwaterbad (Memmert WTB) van 95°C geplaatst om een volledige digestie te bekomen (gebaseerd op Li et al., 2015). Na digestie, werden de stalen rechtstreeks gefiltreerd op een PTFE filter (10,0 µm, Omnipore membrane filter, Merck) via een glazen filtreersysteem. Zowel de maatbeker als het filtreersysteem werden drie keer nagespoeld met gedesoniseerd water en één keer met een 0,1% Tween® 80 oplossing, dit spoelwater werd opgevangen door dezelfde PTFE filter. Vervolgens werd de filter op kamertemperatuur gedroogd gedurende 24h in een stofvrije omgeving.

3.2 Analyse en identificatie

De gedroogde PTFE filters werden geanalyseerd aan de hand van FTIR spectroscopie (Nicolet iN10 FT-IR Microscope; Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, USA). In deze techniek worden microplastic stalen geëxciteerd door bestraling met licht met een specifieke golflengte (Infrarood licht met een golflengte tussen 780 en 106 nm), waarna (plastic-) structuur-specifieke trillingen kunnen worden gedetecteerd. De geproduceerde karakteristieke spectra kunnen als een vingerafdruk voor het type materiaal beschouwd worden en maken dus identificatie van microplastics mogelijk (Li et al., 2018).

Het volledige oppervlak van de filter werd gescand en van elk partikel werd het spectrum bepaald (100 µm step-size scanning, 150 x 150 µm apertuur, spectrale resolutie 16 cm⁻¹, reflectie modus, spectrale range 1300-4000 cm⁻¹). De bekomen spectra werden geïdentificeerd op basis van hun correlatie (Pearson correlatie, threshold match 75%) met gekende spectra in de referentie bibliotheek (*in-house* én commerciële bibliotheek). Verder werd informatie verzameld over de lengte en breedte van het partikel. Alle niet-geïdentificeerde partikels (non-plastics) werden verwijderd uit de datareeks.

Op basis van de lengte en breedte van elke plastic partikel werd de massa ingeschat. Hiervoor werd het volume berekend van elk partikel als een ellipsoïde door de derde dimensie in te schatten als 0.6 keer de breedte (Liu et al., 2020, 2019; Simon et al., 2018). Massa werd vervolgens bepaald door de vermenigvuldiging van volume met densiteit per plastictype zoals deze werd bepaald in de studie van Duis en Coors (2016) (Tabel 10).

Tabel 10: Overzicht van de meest frequent voorkomende polymeertypes uit aquatische milieus, hun gangbare afkorting en hun densiteit (aangepast uit Duis en Coors, 2016).

Plastic materiaal	Afkorting	Densiteit (g cm⁻³)*
Geëxpandeerd polystyreen	EPS	0,01
Lage densiteit polyethyleen	LDPE	0,89
Hoge densiteit polyethyleen	HDPE	0,94
Polypropyleen	PP	0,83
Polyethyleentereftalaat	PET	0,96
Polyamide (nylon)	PA	1,02
Polyacrylamide	PAM	1,20
Polystyreen	PS	1,04
Polymethylmethacrylaat (acrylaat)	PMMA	1,09
Polyvinylchloride	PVC	1,16
Polycarbonaat	PC	1,20
Polyurethaan	PU	1,20
Polyester	PES	1,24
Polytetrafluoroethyleen	PTFE	2,10

Hoofdstuk 4: Kwaliteitszorg

Plastics zijn zowat overal aanwezig waardoor de procedures vaak heel gevoelig zijn voor contaminatie tijdens het verzamelen van de stalen, transport, verwerking en analyse. Het is dus uitermate belangrijk om de kwaliteit van de resultaten te bewaken en hiervoor te controleren. Daarom werden tal van voorzorgsmaatregelen genomen en extra controle stalen verzameld.

4.1 Voorzorgsmaatregelen

De belangrijkste voorzorgsmaatregelen om contaminatie te vermijden, behoren tot zogenaamde *good field and laboratory practices* (GLP). Zowel tijdens de staalname als in het laboratorium werd een katoenen laboschoort gedragen. Extracties werden uitgevoerd in een afgesloten laboratorium, onder een flow (Potteau, Heule) die regelmatig grondig geïmagineerd werd. Alle labo-materiaal werd vooraf driemaal gespoeld met gedestilleerd water en stofvrij bewaard. Flessen, maatbekers, stalen en dergelijke werden afgesloten met aluminiumfolie of een glazen horlogeglas om contaminatie door plastic deksels of via de lucht te vermijden. Glas, metaal of inox labo- of staalname materiaal werd gebruikt waar mogelijk. Plastic labomateriaal werd zoveel mogelijk vermeden. Waar dit niet kon vervangen worden, werd getest voor mogelijke contaminaties. Bijvoorbeeld, bij de verwerking van de stalen werd gebruik gemaakt van conische polypropyleen centrifugetubes van 50 ml voor een dichtheidscheiding. Om zeker te zijn dat bij het gebruik van deze tubes, geen microplastics vrijkwamen door de manipulaties, werd het aantal vrijgekomen microplastic deeltjes na centrifuge (zoals beschreven in het protocol) geanalyseerd in blanco stalen. Niet na het spoelen, noch na het centrifugeren werden partikels teruggevonden op de cellulose nitraat filters. Voor de sedimentstalen werd een PVC zeef gebruikt met nylon met een maaswijdte van 15 µm. Ook hier werd nagegaan in welke mate microplastics vrijkomen door manipulaties. Na manipulaties met de zeef (3 replicaten), werden in het spoelwater geen microplastics teruggevonden. Zo werd elke stap zorgvuldig gecontroleerd om contaminatie tijdens het verwerken van de stalen in het labo te verminderen of vermijden.

4.2 Negatieve controles of blanco stalen

4.2.1 Methode

Om na te gaan in welke mate stalen gecontamineerd werden tijdens het staalname- of extractieproces werden negatieve controle stalen geproduceerd. In deze stalen gebruiken we gefilterd water en verwachten we weinig tot geen microplastics terug te vinden. De negatieve controles werden geproduceerd in het veld en werden, net als de andere stalen, in het labo verwerkt. Op deze manier kan een inschatting gemaakt worden van de contaminatie tijdens staalname, transport en verwerking in het labo, een zogenaamde staalname blanco.

4.2.2 Correctie voor controles

Belangrijk is echter om de mogelijke contaminatie tijdens staalname en verwerking niet enkel te kwantificeren maar de bekomen data van de staalname hiervoor ook te corrigeren. In deze studie maakten we gebruik van een aantal limieten gebaseerd op de contaminatie gevonden in de blanco stalen.

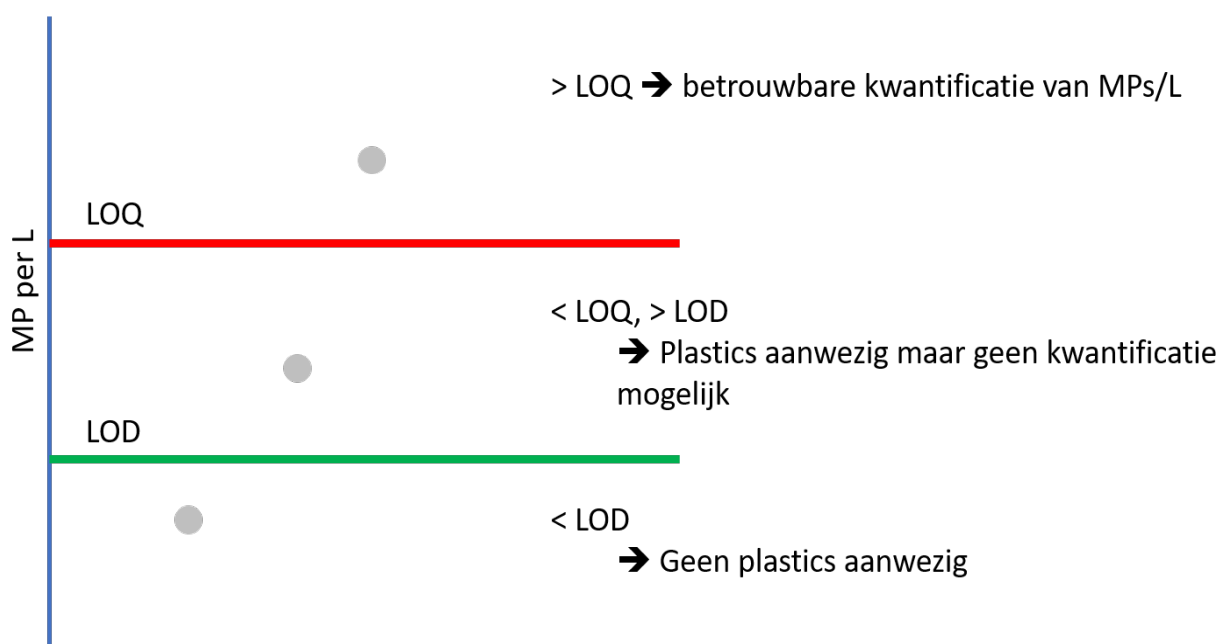
- Limiet voor detectie (LOD):
$$LOD = \text{Gemiddelde}_{\text{Blanco}} + 1,645 \times \text{Standaard deviatie}_{\text{Blanco}}$$
- Limiet voor kwantificatie (LOQ):
$$LOQ = \text{Gemiddelde}_{\text{Blanco}} + 3 \times \text{Standaard deviatie}_{\text{Blanco}}$$

Deze berekening werd uitgevoerd op basis van de negatieve controles per matrix en per polymeertype en is gebaseerd op wetenschappelijke literatuur (Armbruster and Pry, 2008; Uhl et al., 2018).

Deze aanpak werd vergeleken met verschillende andere methoden. De correctie voor mogelijke contaminatie is enorm complex door de grote diversiteit aan partikels. Elk partikel heeft een bepaalde grootte, massa en is van een bepaald polymeertype gemaakt, wat een correctie enorm complex maakt. Daarom werd besloten de voorgestelde techniek op basis van LOD en LOQ waarden te hanteren voor elke matrix en voor elk polymeertype. Alle gevonden concentraties in stalen die zich onder de LOQ voor een bepaald polymeertype bevonden, beschouwen we als onbetrouwbaar om te kwantificeren (Figuur 8). Er werden plastics waargenomen in deze stalen maar door de lage hoeveelheid kunnen we onmogelijk, met voldoende zekerheid, zeggen dat deze partikels werkelijk afkomstig zijn van het staal en niet van mogelijke contaminatie. Om verkeerde conclusies te vermijden, werd in dit geval geen concentratie gerapporteerd en werd dit aangegeven met “<LOQ”. Deze analyse werd per staal uitgevoerd per polymeertype.

Het omgaan met controles in microplastic onderzoek, en de correctie hiervoor, is tot op heden een uitermate bediscuteerd onderwerp in wetenschappelijke literatuur. Er zijn tot op heden geen gestandaardiseerde methoden beschikbaar om controles in rekening te brengen bij analyses (Brander et al., 2020).

De bekomen LOD en LOQ waarden per matrix en per polymeer type zijn weergegeven in Tabel 11.



Figuur 8: Voorbeeld van de gebruikte correctiemethode om mogelijke contaminatie in rekening te brengen. De LOD ('limit of detection') en LOQ ('limit of quantification') waarden werden per matrix en per polymeertype berekend.

Tabel 11: Overzicht van de bekomen LOD (limit of detection) en LOQ (limit of quantification) waarden die berekend werden per matrix en per polymeertype

	KWZI		RWZI		OW		ROF		WPC/SWK	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
PE	0,00	0,00	0,00	0,00	0,68	1,13	0,00	0,00	0,00	0,00
PET	1,07	1,72	0,00	0,00	0,51	0,80	1,35	2,10	0,00	0,00
PP	0,00	0,00	0,15	0,23	0,40	0,61	0,10	0,17	0,01	0,01
PS	0,41	0,65	0,36	0,60	0,00	0,00	1,48	2,40	0,00	0,00
Andere types	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Hoofdstuk 5 Dataverwerking en analyse

De data en metadata werd geïmporteerd in het statistisch programma R Studio voor de verdere verwerking. Grafieken werden geproduceerd met behulp van het ggplot2-pakket beschikbaar in R (versie 4.0.3, 2020).

Verschillen tussen locaties, en omgevingsfactoren op vlak van microplastic concentraties werden op twee manieren statistisch geanalyseerd:

- Wanneer 2 groepen werden vergeleken, werd gewerkt met een (ongepaarde) t-test (assumptie: normale verdeling) of het niet-parametrische alternatief, een Wilcoxon test.
- Wanneer meerdere groepen vergeleken werden, werd gebruik gemaakt van ANOVA (assumptie: normale verdeling en homogene varianties) of het niet-parametrisch alternatief, Kruskal-Wallis. Beide analyses werden gevolgd door een passende post-hoc analyse om de groepen paarsgewijs met elkaar te vergelijken.

De assumpties (normale verdeling en/of aanwezigheid van homogene varianties) werden getest voor het uitvoeren van de analyses, wanneer niet aan de assumpties werden voldaan, werden de niet-parametrische alternatieven (Wilcoxon of Kruskal-Wallis) toegepast voor statistische analyse.

Correlaties met omgevingsfactoren (continue variabelen) of andere metadata (continue variabelen) werd bestudeerd door het berekenen van een correlatiecoëfficiënt – i.e. maat voor de sterkte van het verband tussen beide variabelen – (en de statistische significantie van deze correlatie) gebaseerd op een Pearson-correlatie en Spearman Rank correlatie. De eerste is minder robuust tegen uitschieters waardoor sommige data onvoldoende betrouwbaar geanalyseerd konden worden. Correlaties werden op beide manieren berekend en in de meeste gevallen resulteerde dit in hetzelfde resultaat. Wanneer de data duidelijke uitschieters bevatte, werd enkel Spearman-Rank correlatie test uitgevoerd, door de robuustheid voor uitschieters. Zowel de correlatiecoëfficiënt, de gebruikte methode als de p-waarden worden gerapporteerd. Belangrijk, deze correlatieanalyse is gebaseerd op de assumptie van lineaire correlaties tussen beide continue variabelen.

Verschillen werden als statistisch significant beschouwd als de p-waarde kleiner was dan 0,05. Indien de p-waarden zich tussen 0,1 en 0,05 bevond werd dit geïnterpreteerd als een indicatie van een mogelijk verschil.

Hoofdstuk 6: 'Lessons to be learned'

Er zijn tot op heden geen gestandaardiseerde methoden voor handen voor microplastic onderzoek in complexe omgevingsstalen. In dit onderzoek werden uiteenlopende matrices bemonsterd met aangepaste technieken per matrix.

-  Door de lage concentratie van microplastics in sommige matrices zoals bijvoorbeeld oppervlaktewater, wordt in de literatuur soms geopperd dat er grote volumes water verzameld moeten worden om deze concentraties betrouwbaar in te schatten. Het verzamelen van grote volumes water is echter niet vanzelfsprekend voor een staalname in het veld. Om dit te compenseren hebben wij ervoor gekozen om verschillende replicaten te verzamelen (temporale variatie) op verschillende locaties (spatiale variaties). Mogelijk alternatief is om met filtersystemen grote volumes water te verwerken, maar het succes hiervan zal deels afhangen van belading van het water (bv. hoeveelheid zwevende stoffen, fytoplankton,...).
-  Het verzamelen van geïntegreerde stalen, m.a.w. meerdere kleine stalen over een langere periode verzamelen, lijkt een goede en betrouwbare manier om de variatie op de stalen te verminderen en een betrouwbaardere analyse te kunnen uitvoeren. Uiteraard is dit enkel mogelijk in het geval er een vaste staalname locatie bemonsterd moet worden. Wanneer verschillende stalen in het veld verzameld moeten worden zal een geïntegreerde staalname niet altijd praktisch haalbaar zijn.
-  Geautomatiseerde methoden voor het verzamelen van stalen lijken het risico op contaminatie te verminderen. De stalen en recipiënten moeten minder gehanteerd worden en zijn vaak ook afgesloten van de buitenlucht wat de contaminatie door atmosferische depositie vermindert. Toekomstig onderzoek zou gericht kunnen zijn op het ontwikkelen van geautomatiseerde systemen die gemakkelijk ingezet kunnen worden in het veld.
-  We observeerden een sterke variatie in microplastic concentratie tussen deelstalen en replicaten onderling. Dit wijst er op dat we de variatie in een waterloop nog niet goed kennen. Meerdere replicaten en deelstalen zijn essentieel om een zo betrouwbaar mogelijk beeld te schetsen van de microplastic verontreiniging.
-  Plastics zijn overall, waardoor contaminatie tijdens staalname en analyse bijna niet te vermijden is. Op een correcte en transparante manier omgaan met deze contaminatie zou de gangbare praktijk moeten zijn. Jammer genoeg is dit nog niet het geval, en worden er vaak geen controles uitgevoerd of wordt er op de verkeerde manier gecorrigeerd voor de controles. In deze studie werd gebruik gemaakt van LOD en LOQ analyses die per type matrix en per polymeertype berekend werden. Dit is misschien een ietwat conservatieve methode maar we zijn ervan overtuigd dat dit zo goed als mogelijk corrigeert voor contaminatie. De wetenschap staat ook op dit vlak niet stil, indien er een andere methode een correcter resultaat zou geven, moet deze methode die gebruik maakt van LOD-LOQ waarden bijgesteld worden. Tot op heden, is er echter geen gerapporteerde methode beschikbaar.

De keuze van een methode en staalname techniek zal altijd gebaseerd zijn op wetenschappelijke betrouwbaarheid en relevantie maar ook de praktische haalbaarheid en efficiëntie spelen een belangrijke rol. De standaardisatie en automatisatie van staalname methoden voor microplastic onderzoek speelt een belangrijke rol in het huidige onderzoeksveld. Ook vanuit Europa is hier veel aandacht voor en dit werd vertaald in een project EUROqCHARM met de titel '*European quality controlled harmonization assuring reproducible monitoring and assessment of plastic pollution*' (<https://www.euroqcharm.eu/en>).

Dankwoord

Dit project is het resultaat van een samenwerking tussen meerdere partners. Een dankwoord is dan ook op zijn plaats voor alle mensen die ons geholpen hebben om tot dit resultaat te komen.

We willen de Vlaamse overheid bedanken voor de financiële ondersteuning vanuit Technisch Wetenschappelijk Onderzoek Leefmilieu (TWOL).

Eerst en vooral willen we de medewerkers van VMM bedanken voor hun zorgvuldig werk in het voorbereiden van dit project en het verzamelen van kwaliteitsvolle stalen voor dit project: Steven Vanderwaeren, Joost Mertens, Evelien Van de Vyver, Sandra De Smedt, Maarten De Jonge, Marc Gielen, Laurens Vervoort, Ann De Meester, Wynton Reunes, Jurgen Dewolf, Alexander Desmet, Kurt Peelaers, Elien Vandenbroeck, Anneke Dezwarte, Raf Elst, Patrick De Boeck, Pieter Janssens, Gunter Vandenbroeck, Iris Mahieu, Dorine Quicke, Joost Lux, Tim Mertens, Kris Van der Auwera, Rutger Demuyndck, Geert Meganck, Leo De Kempeneer, Jan De Pril, Liesbet Poppe, Dorien Goossens en Deni Winarni.

Daarnaast bedanken we ook alle medewerkers van VMM uit de stuurgroep en lectoren voor hun adviezen: Marc Gielen, Ann De Meester, Greet Vos, Wim Gabriels, Jurgen Meirlaen, Ingrid Temmerman, Sofie Cattoir, Martin Verdievel (projectleider) en Rudy Cautaeys (afdelingshoofd Rapportering Water).

Bedankt aan alle contactpersonen en verantwoordelijken op de RWZI's, KWZI's en WPC die ons de mogelijkheid gaven om de staalnames te laten doorgaan. Bedankt aan Ann de Swaef en Koen de Becker van Aquafin voor het voorzien van de metadata van de RWZI's. We willen graag Mattias Bossaer en Gert Everaert van het Vlaams Instituut voor de Zee (VLIZ) bedanken voor hun advies rond het gebruik van het FTIR toestel en toegang tot de SEM voor de analyse van de bandenpartikels. Bedankt aan Thermo Fisher voor de ondersteuning bij de installatie en gebruik van het FTIR toestel. Bedankt aan het *Research Institute for Chromatography* (RIC) in Kortrijk voor de analyse van de *run-off* stalen met de Pyr-GC/MS techniek. Bedankt aan VITO en alle betrokken medewerkers voor hun waardevol werk met het WEISS model.

Bedankt, Nancy De Saeyer (UGent), voor het helpen uitwerken van de staalname protocollen en de praktische ondersteuning. De stalen werden vakkundig verwerkt door Emmy Pequeur, Jolien Depecker en Zehlia Zaman, en met de technische ondersteuning van Mark Van der Borgh (UGent). Ook danken wij hier Thomas Osier en Thomas Blondeel. Bedankt voor jullie inspanningen. Tot slot willen we Marianne Van den Hove (UGent), Eveline D'hoossche (VMM) en Gudrun Goeman (VMM) bedanken voor de administratieve en logistieke ondersteuning.

Referenties

- Armbruster, D.A., Pry, T., 2008. Limit of Blank, Limit of Detection and Limit of Quantitation. *Clin Biochem Rev* 29, S49–S52.
- Brander, S.M., Renick, V.C., Foley, M.M., Steele, C., Woo, M., Lusher, A., Carr, S., Helm, P., Box, C., Cherniak, S., Andrews, R.C., Rochman, C.M., 2020. Sampling and Quality Assurance and Quality Control: A Guide for Scientists Investigating the Occurrence of Microplastics Across Matrices. *Appl Spectrosc* 74, 1099–1125. <https://doi.org/10.1177/0003702820945713>
- Claessens, M., Meester, S.D., Landuyt, L.V., Clerck, K.D., Janssen, C.R., 2011. Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Marine Pollution Bulletin* 62, 2199–2204. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.030>
- Duis, K., Coors, A., 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environ Sci Eur* 28, 2. <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0069-y>
- Li, J., Liu, H., Paul Chen, J., 2018. Microplastics in freshwater systems: A review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection. *Water Research* 137, 362–374. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.056>
- Liu, F., Nord, N.B., Bester, K., Vollertsen, J., 2020. Microplastics Removal from Treated Wastewater by a Biofilter. *Water* 12, 1085. <https://doi.org/10.3390/w12041085>
- Liu, F., Olesen, K.B., Borregaard, A.R., Vollertsen, J., 2019. Microplastics in urban and highway stormwater retention ponds. *Science of The Total Environment* 671, 992–1000. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.416>
- Nel, H.A., Dalu, T., Wasserman, R.J., 2018. Sinks and sources: Assessing microplastic abundance in river sediment and deposit feeders in an Austral temperate urban river system. *Science of The Total Environment* 612, 950–956. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.298>
- Simon, M., van Alst, N., Vollertsen, J., 2018. Quantification of microplastic mass and removal rates at wastewater treatment plants applying Focal Plane Array (FPA)-based Fourier Transform Infrared (FT-IR) imaging. *Water Research* 142, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.019>
- Thiele, C.J., Hudson, M.D., Russell, A.E., 2019. Evaluation of existing methods to extract microplastics from bivalve tissue: Adapted KOH digestion protocol improves filtration at single-digit pore size. *Marine Pollution Bulletin* 142, 384–393. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.003>
- Uhl, W., Eftekhardakhah, M., Svendsen, C., 2018. Mapping microplastic in Norwegian drinking water, *Norsk Vann Report* 241/2018.
- Van Cauwenberghe, L., Claessens, M., Vandegehuchte, M.B., Janssen, C.R., 2015. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environmental Pollution* 199, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.008>
- Van Cauwenberghe, L., Claessens, M., Vandegehuchte, M.B., Mees, J., Janssen, C.R., 2013a. Assessment of marine debris on the Belgian Continental Shelf. *Marine Pollution Bulletin* 73, 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.05.026>

- Van Cauwenberghe, L., Janssen, C.R., 2014. Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental Pollution* 193, 65–70.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.010>
- Van Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J., Janssen, C., 2013b. Microplastic pollution in deep-sea sediments. *ENVIRONMENTAL POLLUTION* 182, 495–499.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.08.013>
- Van Echelpoel, W., 2014. Microplastics in a biological wastewater treatment plant and the surrounding freshwater environment in Flanders: Quantitative assessment [WWW Document]. URL https://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/002/166/784/RUG01-002166784_2014_0001_AC.pdf (accessed 10.27.20).

Bijlagen: staalnameprocedure voor microplastics

Bijlage 1. Staalnameprocedure voor microplastics in oppervlaktewater, sediment en biota.

Inhoudstabel

Inhoudstabel	37
1. Doel	40
2. Algemene opmerkingen.....	40
3. Benodigdheden.....	40
4. Voorbereidingen	40
4.1. Planning	41
4.2. Filtratieprocedure stadswater	41
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	43
5. Staalnameprocedures	47
5.1. Algemene voorbereidingen in het veld	47
5.2. Staalname oppervlaktewater	48
5.3. Staalname sediment	49
5.4. Staalname biota	51
6. Afhandeling staalname	53
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	53
6.2. Transport van stalen naar UGent	53
Inhoudstabel	54
1. Doel	57
2. Algemene opmerkingen.....	57
3. Benodigdheden.....	57
4. Voorbereidingen	57
4.1. Planning	57
4.2. Filtratieprocedure stadswater	59
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	61
5. Staalnameprocedures	64
5.1. Algemene handelingen op de RWZI site	64
5.2. Staalname RWZI influent	64
5.3. Staalname RWZI effluent	66
5.4. Staalname ingedikt slib	69

5.5. Staalname drijvende fractie in bezinkingsbekken	70
6. Afhandeling staalname	74
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	74
6.2. Transport van stalen naar UGent	74
Inhoudstabel	75
2. Algemene opmerkingen	77
3. Benodigdheden	77
4. Voorbereidingen	77
4.1. Planning	77
4.2. Filtratiedprocedure stadswater	78
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	80
5. Staalnameprocedures	83
5.1. Algemene handelingen op de Run-off site	83
5.2. Staalname Run-off	83
5.3. Staalname atmosferische depositie	86
6. Afhandeling staalname	87
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	87
6.2. Transport van stalen naar UGent	88
Inhoudstabel	89
1. Doel	91
2. Algemene opmerkingen	91
3. Benodigdheden	91
4. Voorbereidingen	91
4.1. Planning	91
4.2. Filtratiedprocedure stadswater (ter productie van spoelwater)	92
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	94
5. Staalnameprocedures	95
5.1. Algemene handelingen op de staalnamelocatie	95
5.2. Staalname stadswater (WPC of SWK stalen)	97
3. Afhandeling staalname	106
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	106
6.2. Transport van de stalen naar UGent	106

1. Doel

Dit protocol beschrijft alle uit te voeren handelingen van voorbereiding tot staalname, voor het nemen van milieustalen in kader van het onderzoek naar microplastics in zoetwatermilieus.

2. Algemene opmerkingen

- Alle materiaal dient voorbehouden te worden voor de staalname van microplastics.
- Het materiaal dient gestockeerd te worden in een aparte propere ruimte.
- Het materiaal dat nog eens moet voorgespoeld worden in het veld, wordt in het protocol aangegeven door een [blauwe kleur](#).
- In de staalnameprocedure wordt *de behandeling van de blanco/controle stalen* cursief gedrukt.

3. Benodigdheden

Foto's en benamingen van de verschillende benodigdheden/materialen zijn te vinden in in annex 1.

Standaardbenodigdheden staalname:

- 1 Aluminiumfolie: knip voldoende aluminiumfolie's op de goede grootte zodat in het veld deze snel kunnen vervangen worden indien nodig
- 2 Witte katoenen overall (in katoenen zak)
- 3 Olie regenvest (in katoenen zak)
- 4 Metadata veldfiches (opgemaakt door UGent)
- 5 Fototoestel (gsm)
- 6 Tesa Tape
- 7 2 Betonplex platen (90x60cm)
- 8 Spoelwater (gefiltreerd (0.8µm) stadswater of MQ-water afgenomen na 0.22µm-filter) voor het spoelen van het materiaal in het veld (zie sectie 4.2 voor de filtratieprocedure van het stadswater en 4.3 voor de benodigde volumes)
- 9 Ecover handzeep
- 10 Katoenen doekjes

De specifieke benodigdheden per matrix zijn opgelijst in sectie 5.2, 5.3 en 5.4.

4. Voorbereidingen

4.1. Planning

- Weerbericht nazien om het juiste staalnametijdstip te kiezen (droog vs nat weer dag staalnames).
 - Droog weer dag
 - Vanaf een 3e dag, na minstens 2 dagen met minder dan 0,2 mm neerslag/dag.
 - De neerslag op de dag zelf moet ook minder dan 0,2 mm neerslag/dag zijn, tenzij de neerslag pas na het einde van de eigenlijke staalname valt.
 - Nat weer dag
 - De dag na een dag met minstens 2 mm neerslag/dag.
 - De hoeveelheid neerslag op de dag zelf maakt niet uit voor de keuze van deze nat weer dag, maar moet vanzelfsprekend wel worden opgezocht/bijgehouden voor het vervullen van de metadata.
- UGent op de hoogte brengen bij definitieve planning van staalnames om het binnenbrengen van de stalen af te spreken.
- Fiches voorzien om alle metadata van de staalnames te verzamelen.

4.2. Filtratieprocedure stadswater

- Draag hiervoor een overall (100% katoen), met geschikte onderkledij (niet synthetisch). Was de handen met ecover handzeep.
- Als alternatief voor het filteren van stadswater (op de hieronder beschreven manier) ter productie van spoelwater, kan ook Milli-Q water gebruikt worden dat een eindfiltratie kent over 0.22µm. Een dergelijke productie van spoelwater (MQ-water) volgt wel dezelfde principes als hieronder beschreven (bvb. voorspoelen van flessen).
- Benodigd materiaal:
 - 1 Glazen filtratieopstelling voor filters met diameter 47mm voorzien van 1L-trechter en 4L-opvangkolf (nooit gebruikt voor andere toepassingen).

Wikkel of sluit af in aluminiumfolie voor bewaring.
 - 2 Filters Supor 800 : 0,8µm poriëndiameter, D47mm
 - 3 Vacuümpomp met aansluitingen
 - 4 10L Glazen flessen (gereinigd – zie sectie 4.3)
 - 5 Aluminiumfolie

- Filtratieprocedure:

1e gebruik filtratieopstelling (nieuwe opstelling):

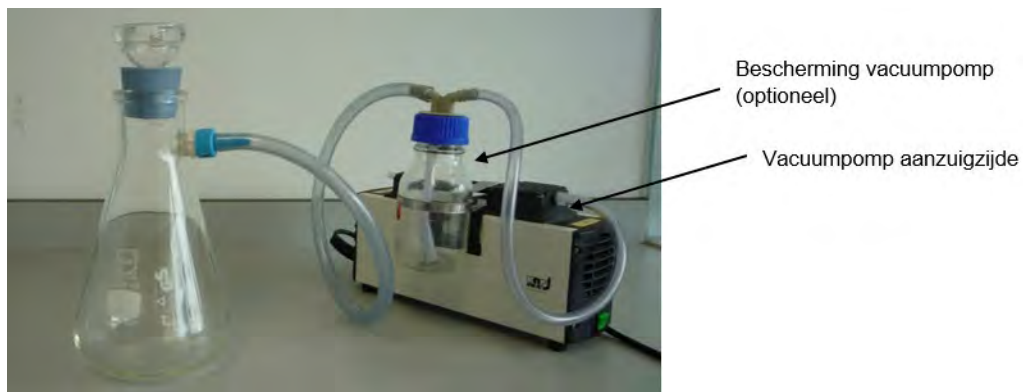
- Zowel de opvangfles, als de filterhouder en trechter worden gereinigd met detergent (Ecover).
- Naspoelen met (niet-gefiltreerd) stadswater.

Effectieve filtratie:

Opmerking bij afbeeldingen:

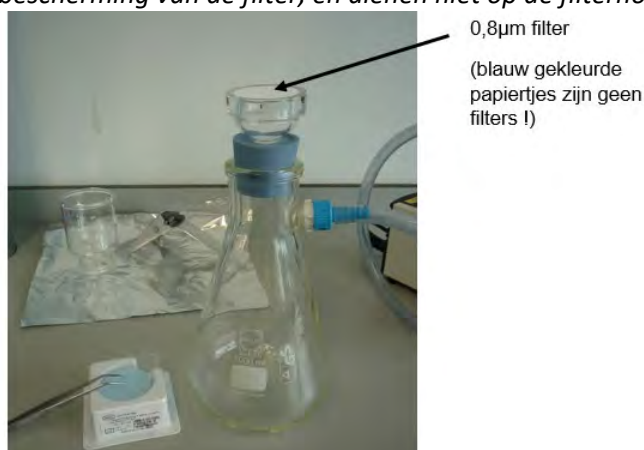
De aanbevolen glazen filtratieopstelling wijkt in beperkte mate af van de opstelling in de afbeeldingen (volume trechter, volume opvangfles, en montage van filterhouder op opvangfles gebeurt via een slijpstuk i.p.v. een rubberen stop).

- Monteer de glazen filtratie-eenheid en verbind met de vacuümpomp



- Leg een 0.8µm Supor filter op de filterhouder.

Opmerking : de (witte) filters liggen steeds tussen 2 blauwe papiertjes. Deze dienen als bescherming van de filter, en dienen niet op de filterhouder geplaatst te worden.



- Monteer de glazen trechter. Klem vast met bijhorende klem.



- Vul de trechter volledig met 1L stadswater en filtreer onder vacuum.
- Spoel de opvangfles met de 1L gefiltreerd stadswater d.m.v. omzwenken.
- Verwijder dit gefiltreerd stadswater (1L).
- Start het filtreren van het nodige volume stadswater (zie sectie 4.3). Voorzie steeds extra gefiltreerd stadswater. Een teveel aan spoelwater kan perfect later gebruikt worden.
- Vervang de filter indien de filtratie moeilijk begint te verlopen.
- Verzamel het water in voorgespoelde (zie sectie 4.3) glazen flessen (10L – zonder blauwe ring).
- Sluit de flessen af met aluminium folie tussen dop en hals (zie sectie 4.3).
- Demonteer de opstelling. Wikkel de glazen filterhouder en trechter in aluminium folie. Sluit de opvangkolf af met aluminiumfolie. Bewaar het materiaal in een kast of afgesloten doos in de voorbehouden ruimte.

4.3. Voorbereiding materiaal in labo

- Draag hiervoor een overall (100% katoen – voorbehouden voor de handelingen in het labo), met geschikte onderkledij (niet synthetisch – zie ook voorwaarden voor eigenlijke staalname).
- Handen wassen met ecover handzeep.
- Voldoende spoelwater (gefiltreerd stadswater of MQ-water) voorzien voor het voorspoelen van het materiaal in het labo en in het veld (zie sectie 4.2 voor filtratie stadswater).
 - o Voorzie voldoende spoelwater voor het reinigen van het staalname materiaal (zie volumes hieronder en opgedane ervaring tijdens het project). Plaats steeds aluminiumfolie tussen dop en hals van de 10L fles.
 - o Overzicht benodigd volume spoelwater op het veld, per staalname handeling :

▪ Handen wassen vóór staalname	0,5L per persoon, plaats en matrix
▪ Voorspoelen materiaal opp.water	3L per staalname (3 + 1 replicaten)
▪ Voorspoelen materiaal sediment	4L per staal (1 + 1 replicaten)
▪ Voorspoelen materiaal biota	4L per staal (1 + 1 replicaten)

Rekenvoorbeeld (2 staalnemers):

Op één locatie worden 3 (+1) opp.water stalen, 1 (+1) sediment staal en 1 (+1) biota staal genomen. Dan is er $2 \cdot 0.5L + 3L + 2 \cdot 0.5L + 4L + 2 \cdot 0.5L + 4L = 14L$ spoelwater nodig (+1 = getuigestalen).

In dit geval worden best twee gereinigde 10L flessen gevuld met elk minstens 7L spoelwater. Plaats steeds aluminium folie tussen dop en flessenhals.

- Transportvoertuig
 - Reinigen voor start staalnameweek.
- Staalname materiaal reinigen
(zie benodigd materiaal per matrix in sectie 5.2, 5.3 en 5.4):
 - Voor elke staalnamedag: reinigen met detergent (Ecover) en niet-gefiltreerd stadswater.
 - Naspoelen met spoelwater.
 - Laten drogen/uitlekken in een voorbehouden lokaal of ruimte met beperkte toegang (op absorberend papier plaatsen en bekens, emmers en dergelijk materiaal omdraaien).
 - Trechters, lepels, scheppen, telescoopbekers na drogen in een 12L emmer steken en afsluiten met deksel en tesa tape.
- Nieuwe staalname recipiënten (10L flessen, 4L bokalen) voorspoelen:
 - Blauwe ring verwijderen (indien nog aanwezig op de 10L flessen).
 - Spoelen met spoelwater.
 - Nog aanwezige water gedurende 10sec “uitschudden”.
 - Sluiten met aluminiumfolie tussen dop en flessenhals. Aluminium folie een beetje indrukken om beschadiging tegen te gaan.
- Opnieuw te gebruiken staalname recipiënten (10L flessen, 4L bokalen) reinigen en voorspoelen:
 - Reinigen met detergent (Ecover) en niet-gefiltreerd stadswater.
 - Spoelen met niet-gefiltreerd stadswater.
 - Spoelen met spoelwater.
 - Nog aanwezige water gedurende 10sec “uitschudden”.
 - Sluiten met aluminiumfolie tussen dop en flessenhals. Aluminium folie een beetje indrukken om beschadiging tegen te gaan.



- O De labelling voor de milieustaalname wordt standaard op de volgende manier geschreven:

JJJJMMDD - waterloop - locatiecode

+ niets

+ (G) = getuige staal

+ (D) = demo staal

- 0 Als voorbeeld wordt hieronder weergegeven hoe de recipiënten voor de demostaalname in de Oude Kale op 17 april 2019 werden gelabeld:

Oppervlaktewater (OW)

UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 OW – 001 (BI)	UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 OW – 004
UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 OW – 002	UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 OW – 005 – (G)
UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 OW – 003	

Sediment (Sed)

UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 Sed – 001	UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 Sed – 004 – (G)
UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 Sed – 002	UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 Sed – 005 – (D)
UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 Sed – 003	

Muggenlarven – Biota (Bio)

UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 Bio – 001	UG – VMM – MP project 20190417 – Oude Kale – 749200 Bio – 003
--	--

<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190417 – Oude Kale – 749200</i> <i>Bio – 002</i>	<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190417 – Oude Kale – 749200</i> <i>Bio – 004 (G)</i>
--	--

- Staalname kledij
 - o Staalname overall en eventueel nodige leren handschoenen altijd in katoenen zak meenemen.
 - o Olie regenjas altijd in aparte katoenen zak meenemen.
 - o Eigen basiskledij controleren (niet synthetisch) vóór het vertrek en eventueel aanpassen.
- Materiaal checklist (standaardmateriaal en per matrix) controleren (zie secties 3, 5.2, 5.3 en 5.4).

5. Staalnameprocedures

5.1. Algemene voorbereidingen in het veld

- Opnieuw basiskledij controleren op synthetische samenstelling en indien mogelijk aanpassen.
- Staalnameplaats bezichtigen.
Zoek de beste plaats om de stalen te nemen. Zoek bij de gekozen plaats een vlak punt om het materiaal te kunnen zetten. Leg op of dicht bij dit vlak punt de betonplex platen (90x60cm).
- Vooraleer het materiaal wordt klaar gezet, moet de overall (bewaard in katoenen zak) worden aangetrokken.
- Handen wassen met ecover handzeep en spoelwater (10L fles). Doe dit niet boven de betonplex platen.
- Benodigd staalname materiaal spoelen met spoelwater.
 - o Overzicht benodigd volume spoelwater per staalname handeling
 - Handen wassen voor staalname 0,5L per persoon, plaats en matrix
 - Voorspoelen materiaal opp.water 3L per staalname
(3 repl., incl. + 1 getuigestaal)
 - Voorspoelen materiaal sediment 4L per staal (incl. +1 getuigestaal)
 - Voorspoelen materiaal biota 4L per staal (incl. +1 getuigestaal)
 - o Rekenvoorbeeld: zie sectie 4.3.
 - o Bij gebrek aan voldoende spoelwater kan het te spoelen materiaal ook eerst met het oppervlakte water gespoeld worden, gevolgd door het standaard spoelwater.
 - o Materiaal aangebracht in een afgesloten emmer dient niet meer voorgespoeld te worden in het veld.
 - o Gebruikt spoelwater wordt gebruikt om de betonplex platen af te spoelen.
- Indien meerdere matrices op dezelfde locatie bemonsterd moeten worden, dient deze volgorde gerespecteerd te worden: (1) opp.water, (2) sediment, (3) biota.
- Laat de doppen van de staalname recipiënten nooit open aan de lucht liggen. Leg deze omgekeerd op Aluminiumfolie, of leg er Aluminiumfolie over.

5.2. Staalname oppervlaktewater

Ter ondersteuning : een visueel schematisch overzicht is beschikbaar in annex 2.

Benodigd materiaal:

- 1 Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3)
- 2 1 inox emmer (15L)
- 3 Inox staalnametelescoop met inox beker (1L – tot 3m)
- 4 Inox trechter
- 5 10L glazen flessen (4 per staalnamepunt + 1 reserve), gereinigd, voorgespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3)
- 6 Indien van toepassing (zie staalnameoverzicht): Blanco/controle waterstaal (in 10L glazen recipiënt, aangeleverd door GhEnToxLab)

Alle **benodigd materiaal** wordt op de **betonplex platen** gelegd.

Blanco/controle staalname (zie staalnameoverzicht of deze moet behandeld worden)

- Deze blanco/controle staalname wordt uitgevoerd vóór de effectieve staalname.
- Blanco/controle fles op **betonplex plaat** zetten (deze fles is bijna volledig gevuld = beperkte headspace).
- Blanco/controle fles openen en volledig uitgieten in de **15L inox emmer**.
- **Trechter** in de uitgegoten 10L fles plaatsen.
- Met de (ietwat ingekorte) **telescopische staalname beker** dit (blanco/controle) water uit de emmer terug in de oorspronkelijke fles brengen (zo analoog mogelijk aan normale staalname oppervlakte water – zie visueel overzicht in annex 2).
- Het restje water dat niet makkelijk op die manier kan bemonsterd worden, wordt weg gegoten (**niet** overgieten in de fles).
- Fles sluiten met aluminium folie tussen dop en hals.

Effectieve oppervlaktewater staalname (altijd 3 replicaten + 1 getuigestaal)

- 4 lege flessen en ander benodigd materiaal op de **betonplex platen** zetten (deze flessen **niet** meer spoelen in het veld).
- 1^e fles openen en **trechter** erin plaatsen.
- 1^e fles vullen met oppervlakte water m.b.v. **telescopische staalname beker**: a.d.h.v. substalen (± 1 L) de 10L-fles vullen tot minstens 10L (zie overzicht in annex 2). Indien visueel zichtbaar is dat het sediment opgewoeld wordt, wordt het volgende substaal 1 à 2m stroomopwaarts genomen.
Indien macroplastics visueel zichtbaar in het staal aanwezig zijn, dienen deze verwijderd te worden.
- De specifieke details voor het bemonsteren van oppervlaktewater, zoals de afstand vanaf de oever (1 - 2m) en de diepte (tot 0.5m) zijn tevens voorgesteld in het visueel overzicht in annex 2.
- 2^e fles openen, trechter verplaatsen en 1^e fles sluiten met aluminium folie.
- Schuif bij elke nieuwe fles telkens 1 à 2m stroomopwaarts op, om eventueel opgewoeld sediment niet mee te bemonsteren.
- Dezelfde handelingen herhalen voor de 2^e, 3^e en 4^e fles (4^e fles = getuigestaal).

Kledij (overall, olieregenvest, handschoenen) terug in katoenen zak opbergen.

Vervolledig de metadata file en neem een foto (zie sectie 6.1).

5.3. Staalname sediment

Ter ondersteuning : een visueel schematisch overzicht is beschikbaar in annex 3.

Benodigd materiaal:

- 1 Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3)
- 2 Waadpak en/of boot
- 3 Korte en lange handschoenen (in katoenen zak)
- 4 Van Veen grijper
- 5 2 inox emmers (12L), met bijhorende deksels
- 6 4L glazen bokalen (2 per staalnamepunt + 1 reserve), gereinigd, voorgespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3).
- 7 Inox lepel(s) en schep(pen)
- 8 Indien van toepassing (zie staalnameoverzicht): Blanco/controle sedimentstaal (in glazen bokaal, aangeleverd door GhEnToxLab).

In kleine ondiepe (<1m) waterlopen worden deze staalnames uitgevoerd m.b.v. een waadpak.

- Alle **benodigd materiaal** wordt op de oever op de **betonplex platen** gezet.

In grote diepe waterlopen worden deze staalnames uitgevoerd m.b.v. een boot.

- Alle **benodigd materiaal** wordt in de boot geplaatst, op een zo proper mogelijk oppervlak. Indien de **betonplex platen** in de boot kunnen gelegd worden is dit een goed alternatief om een proper oppervlak te creëren.

Effectieve sediment staalname (1 replicaat + 1 getuigestaal)

- Benodigd aantal lege 4L bokalen op **betonplex platen** zetten (deze bokalen **niet** meer spoelen in het veld).
- Staalname uitvoeren met de **Van Veen grijper** (zie overzicht in annex 3):
 - o Het uiteindelijk staal moet uit 5-10 aparte Van Veen stalen bestaan.
 - o De 5-10 stalen worden over de volledige breedte van de rivier genomen zodoende dat dit een geïntegreerd staal is. Preferentieel wordt sediment in een relatief recht stuk rivier bemonsterd. Indien dit niet mogelijk is en staalname enkel mogelijk is in een bocht worden stalen ook over de volledige breedte van de rivier genomen (buitenbocht, midden en binnenbocht).

- o In grote diepe waterlopen worden de 5-10 stalen ook over de volledige breedte van de rivier genomen (te starten op $\pm 1\text{m}$ van de ene oever en te eindigen op $\pm 1\text{m}$ van de andere oever).
 - o Voor het nemen van opeenvolgende substalen wordt steeds een beetje (0,5-1m) stroomopwaarts gegaan/gevaren (dit om eventuele contaminatie te minimaliseren). Elk Van Veen staal wordt opgevangen in een [inox emmer](#).
 - o Deze procedure wordt herhaald tot een voldoende hoeveelheid sediment verzameld is in de inox emmer (na 5-10 aparte Van Veen stalen). Dit wordt gecontroleerd door het volume in de inox emmer te schatten (minstens 5L staal).
 - o Het geheel in de inox emmer wordt gehomogeniseerd met de lepel/schep. Indien macroplastics of grote takken/stenen visueel zichtbaar zijn in het staal, dienen deze verwijderd te worden. Het is niet de bedoeling om het volledige staal in detail te doorzoeken.
 - o Het homogene staal wordt vanuit de inox emmer overgebracht naar de 2 voorziene (gelabelde) 4L bokaal die minstens halfvol moeten gevuld worden. De 2^e gevulde bokaal is het getuigestaal.
 - o Bokaal sluiten met aluminium folie tussen dop en hals.
- Indien op meerdere locaties stalen moeten genomen worden, wordt het materiaal tussenin gespoeld met spoelwater.

Blanco/controle staalname (zie staalnameoverzicht of deze moet behandeld worden)

- Deze blanco/controle staalname wordt uitgevoerd na de effectieve sediment staalname.
- Blanco/controle bokaal op betonplex plaat zetten (deze fles is half gevuld).
- Blanco/controle bokaal openen en zo volledig mogelijk overbrengen (lepel/schep gebruiken) naar een 12L inox emmer.
- Staal mengen met de lepel/schep in deze 12L inox emmer.
- Terug in originele blanco/controle bokaal brengen met lepel/schep.
- Het restje sediment dat niet op deze manier bemonsterd kan worden, wordt weg gegooit (niet overbrengen in bokaal).
- Bokaal sluiten met aluminium folie tussen dop en hals.

Kledij (overall, olieregenvest, handschoenen) terug in katoenen zak opbergen.

Vervolledig de metadata file en neem een foto (zie sectie 6.1).

5.4. Staalname biota

(1 replicaat + 1 getuigestaam/geen “blanco handelingen)

Ter ondersteuning : een visueel schematisch overzicht is beschikbaar in annex 4.

Benodigd materiaal:

1	Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3)
2	Waadpak en/of boot
3	Korte en lange handschoenen (in katoenen zak)
4	Van Veen grijper en/of BBI staalnamenet (500µm)
5	Inox emmers (12L), met bijhorende deksels (2 per staalnamepunt + 1 reserve), gereinigd, voorgespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3). Na het reinigen worden de inox emmers met de bijhorende deksels en tesa tape afgesloten.
6	Inox bak (630x450x90mm) voor staalname met Van Veen grijper
7	Inox lepel(s) en schep(pen)

In kleine ondiepe (<1m) waterlopen worden deze staalnames uitgevoerd m.b.v. een waadpak en een **BBI staalname net** (<500µm).

- o Alle **benodigd materiaal** wordt op de oever op de **betonplex platen** gezet.
- o De staalname wordt min of meer hetzelfde uitgevoerd als een BBI staalname in ondiepe waterlopen.
- o De staalname gebeurt over de volledige breedte van de rivier, zodoende dat dit een geïntegreerd staal is. Preferentieel wordt in een relatief recht stuk rivier bemonsterd. Indien dit niet mogelijk is en staalname enkel mogelijk is in een bocht, worden substalen ook over de volledige breedte van de rivier genomen (buitenbocht, midden en binnenbocht).
- o Tijdens de staalname wordt langzaam aan stroomopwaarts gewandeld met het staalname net (<500µm).
- o De persoon die het staal neemt stapt voor het net uit om de bodem op te woelen.
- o Wanneer het net goed gevuld is met materiaal wordt het staal vervolgens overgebracht naar een 1^e en 2^e (getuigestaal) gelabelde inox emmer (12L– niet meer opnieuw gespoeld in het veld). Zorg voor een 50/50% verdeling over de twee emmers en sluit deze onmiddellijk terug af met het inox deksel.

- o Op het veld wordt op een klein substaal nagegaan of er wel degelijk voldoende muggenlarven in het staal aanwezig zijn.
- o Indien macroplastics visueel zichtbaar in het staal aanwezig zijn, dienen deze verwijderd te worden. Het is niet de bedoeling om het volledige staal in detail te doorzoeken.
- o Indien er een vermoeden is dat er te weinig materiaal werd verzameld, wordt de procedure herhaald tot de emmer goed vol is.
- o Indien er wordt vastgesteld (schatting) dat er waarschijnlijk te weinig biota (< 50 muggenlarven) werden bemonsterd, wordt de staalname opnieuw uitgevoerd op een kleine afstand van deze staalname locatie, of wordt de staalname uitgesteld in de tijd.
- o De emmer wordt finaal afgesloten met het inox deksel en tesa tape. Er wordt geen fixatiemiddel toegevoegd.
- o De emmer wordt zo snel als mogelijk na de staalname (liefst dezelfde dag) naar de UGent gebracht voor een snelle verwerking en wordt, indien mogelijk, ondertussen koel (4-10°C) bewaard.

In grote diepe waterlopen worden deze staalnames uitgevoerd m.b.v. een boot en een [Van Veen grijper](#).

- o Alle [benodigd materiaal](#) wordt in de boot geplaatst, op een zo proper mogelijk oppervlak. Indien de [betonplex platen](#) in de boot kunnen gelegd worden is dit een goed alternatief om een proper oppervlak te creëren.
- o Benodigd aantal inox emmers op betonplex platen zetten (deze emmers niet meer spoelen in het veld).
- o Staalname uitvoeren met de [Van Veen grijper](#) (zie afbeeldingen in annex 4).
- o De staalname gebeurt over de volledige breedte van de rivier, zodoende dat dit een geïntegreerd staal is. Preferentieel wordt in een relatief recht stuk rivier bemonsterd. Indien dit niet mogelijk is en de staalname enkel mogelijk is in een bocht, worden substalen ook over de volledige breedte van de rivier genomen (buitenbocht, midden en binnenbocht).
- o Voor het nemen van opeenvolgende substalen wordt steeds 0,5 tot 1m stroomopwaarts gevaren.
- o Elk Van Veen staal wordt eerst opgevangen in een [inox bak](#). Na het verzamelen van enkele Van Veen stalen in de inox bak, wordt het staal overgebracht naar het BBI-handnet om zo een eerste snelle opspoeling van het staal te verkrijgen. Dit laatste wordt vervolgens overgebracht naar een 1^e en 2^e (getuigestaal) inox emmer (12L). Zorg voor een 50/50% verdeling.
- o Deze inox emmers worden tussen de opeenvolgende substalen steeds afgesloten met de voorziene inox deksels.
- o Het overige slib uit de inox bak wordt stroomafwaarts weggegooid.
- o De inox bak wordt niet uitgespoeld tussen verschillende substalen.
- o Indien er een vermoeden is dat er te weinig materiaal werd verzameld, wordt de procedure herhaald tot de emmers goed vol zijn.
- o Op het veld wordt op een klein substaal nagegaan of er voldoende muggenlarven in het staal aanwezig zijn.
- o Indien macroplastics visueel zichtbaar in het staal aanwezig zijn, dienen deze verwijderd te worden. Het is niet de bedoeling om het volledige staal in detail te doorzoeken.
- o Indien er wordt vastgesteld (schatting) dat er te weinig biota (< 50 muggenlarven) werden bemonsterd, wordt de staalname opnieuw uitgevoerd op een kleine afstand van deze staalname locatie, of wordt de staalname uitgesteld in de tijd.
- o De emmers worden finaal afgesloten met de inox deksels en tesa tape. Er wordt geen fixatiemiddel toegevoegd.

- o De emmers worden zo snel als mogelijk na de staalname (liefst dezelfde dag) naar de UGent gebracht voor een snelle verwerking en worden, indien mogelijk, ondertussen koel (4-10°C) bewaard.

Kledij (overall, olieregenvest, handschoenen) terug in katoenen zak opbergen.

Vervolledig de metadata file en neem een foto (zie sectie 6.1).

6. Afhandeling staalname

6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches

- Indien mogelijk, de stalen koel (4-10°C) bewaren tot transport naar UGent.
- Invullen van de verzamelde metadata op de daarvoor voorziene online spreadsheet.
 - o Deze online spreadsheet wordt door de UGent aangemaakt en gemodereerd.
- Alle metadata veldfiches (originele papieren versie) verzamelen bij een daarvoor aangewezen VMM medewerker.
- De beste foto per matrix van de staalname locatie opslaan in een daarvoor voorziene online dropbox map.
 - o De dropbox map wordt door een VMM medewerker aangemaakt en gemodereerd (conform met bestaande systemen).
 - o Foto's moeten nadien als volgt worden benoemd (gelijkaardig aan labelling):

JJJJMMDD_WATERLOOP_LOCATIECODE_MATRIX

 - Het centrum van de foto bevat steeds de plaats waar het staal werd genomen en omvat best een herkenbaar punt (deel van oever, boom of een ander herkenningspunt).

6.2. Transport van stalen naar UGent

- Minimaal 1 maal per staalnameweek worden de stalen aan de UGent bezorgd. Uitzonderingen hier op zijn de biota stalen, die bij voorkeur de dag zelf nog getransporteerd worden naar de UGent.

Bijlage 2: Staalnameprocedure voor microplastics in verschillende stromen van een RWZI.

Inhoudstabel

Inhoudstabel	37
1. Doel	40
2. Algemene opmerkingen.....	40
3. Benodigdheden.....	40
4. Voorbereidingen	40
4.1. Planning	41
4.2. Filtratieprocedure stadswater	41
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	43
5. Staalnameprocedures	47
5.1. Algemene voorbereidingen in het veld	47
5.2. Staalname oppervlaktewater	48
5.3. Staalname sediment	49
5.4. Staalname biota	51
6. Afhandeling staalname	53
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	53
6.2. Transport van stalen naar UGent	53
Inhoudstabel	54
1. Doel	57
2. Algemene opmerkingen.....	57
3. Benodigdheden.....	57
4. Voorbereidingen	57
4.1. Planning	57
4.2. Filtratieprocedure stadswater	59
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	61
5. Staalnameprocedures	64
5.1. Algemene handelingen op de RWZI site	64
5.2. Staalname RWZI influent	64

5.3. Staalname RWZI effluent	66
5.4. Staalname ingedikt slib	69
5.5. Staalname drijvende fractie in bezinkingsbekken	70
6. Afhandeling staalname	74
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	74
6.2. Transport van stalen naar UGent	74
Inhoudstabel	75
2. Algemene opmerkingen.....	77
3. Benodigdheden.....	77
4. Voorbereidingen	77
4.1. Planning	77
4.2. Filtratieprocedure stadswater	78
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	80
5. Staalnameprocedures	83
5.1. Algemene handelingen op de Run-off site	83
5.2. Staalname Run-off	83
5.3. Staalname atmosferische depositie	86
6. Afhandeling staalname	87
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	87
6.2. Transport van stalen naar UGent	88
Inhoudstabel	89
1. Doel	91
2. Algemene opmerkingen.....	91
3. Benodigdheden.....	91
4. Voorbereidingen	91
4.1. Planning	91
4.2. Filtratieprocedure stadswater (ter productie van spoelwater)	92
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	94
5. Staalnameprocedures.....	95
5.1. Algemene handelingen op de staalnamelocatie	95
5.2. Staalname stadswater (WPC of SWK stalen)	97
3. Afhandeling staalname	106
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	106

1. Doel

Dit protocol beschrijft alle uit te voeren handelingen, van voorbereiding tot staalname, voor het bemonsteren van verschillende stromen in een RWZI.

2. Algemene opmerkingen

- Alle materiaal dient voorbehouden te worden voor de staalname van microplastics.
- Het materiaal dient gestockeerd te worden in een aparte propere ruimte.
- Het materiaal dat nog eens moet voorgespoeld worden op de RWZI site, wordt in het protocol aangegeven door een [blauwe kleur](#).
- Er mag **NOOIT MQ of gedesioniseerd water door de monsternamekasten** gestuurd worden gezien dit de toestellen ontregeld Deze toestellen meten de hoeveelheid water immers a.d.h.v. geleidbaarheidsmetingen.

3. Benodigheden

Foto's en benamingen van de verschillende benodigheden/materialen zijn te vinden in in annex 1.

Standaardbenodigheden staalname:

1	Aluminiumfolie: knip voldoende aluminiumfolie's op de goede grootte zodat deze bij een staalname snel kunnen vervangen worden indien nodig
2	Witte katoenen overall (in katoenen zak)
3	Olie regenvest (in katoenen zak)
4	Korte lederen handschoenen (in katoenen zak)
5	Metadata veldfiches (opgemaakt door UGent)
6	Fototoestel (gsm)
7	Tesa Tape
8	Spoelwater (gefiltreerd (0.8µm) stadswater of MQ-water afgenomen na 0.22µm-filter) voor het spoelen van het materiaal in het veld (zie sectie 4.2 voor de filtratieprocedure van het stadswater en 4.3 voor de benodigde volumes)
9	Ecover handzeep
10	Katoenen doekjes
11	Veiligheidsschoenen

De specifieke benodigheden per matrix zijn opgelijst in sectie 5.2, 5.3, 5.4, 5.5 en 5.6.

4. Voorbereidingen

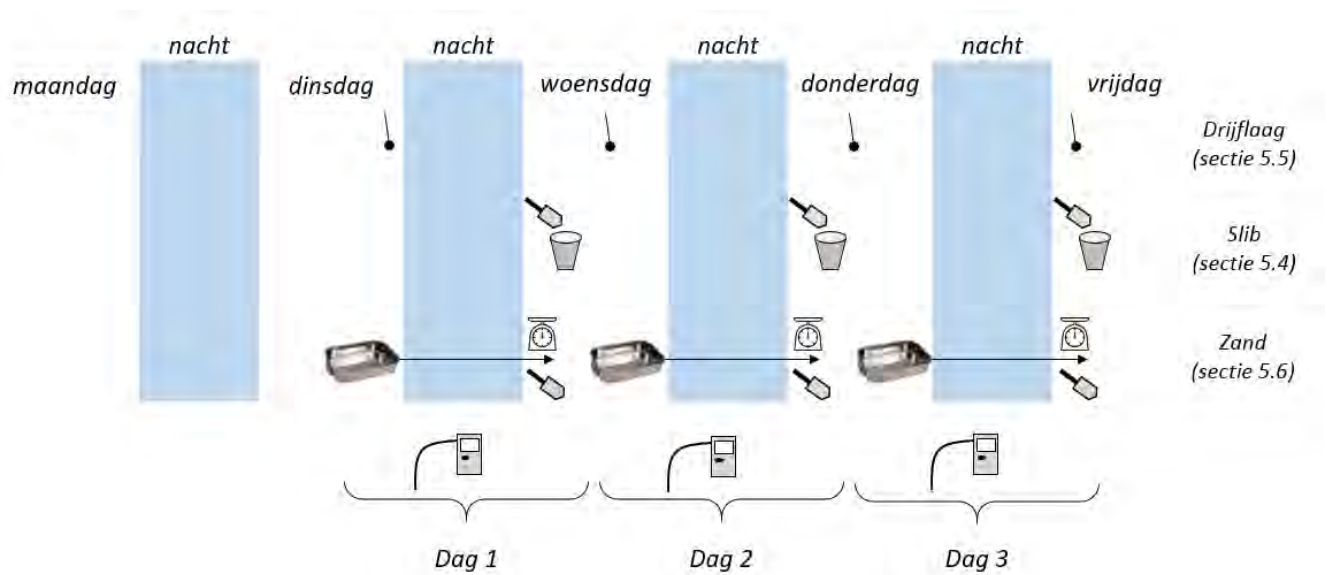
4.1. Planning

- “Droog weer” staalnames gaan door zoals vooraf ingepland. Indien het regent zal daar in de analyse van de data rekening mee worden gehouden. Voor de twee “nat weer” staalname weken moet worden getracht om in een week met voldoende neerslag te gaan bemonsteren

en dient het weerbericht worden opgevolgd. Indien de voorspellingen aangeven dat er weinig tot geen neerslag zal vallen, moet de “nat weer” staalnameweek uitgesteld worden.

- o “Nat weer” week : op minstens twee van de drie staalnamedagen moet er meer dan 2mm neerslag/dag vallen.

- UGent op de hoogte brengen bij definitieve planning van staalnames om het binnenbrengen van de stalen af te spreken.
- Fiches voorzien om alle metadata van de staalnames te verzamelen.
- Een RWZI staalnameweek met enkel influent en effluent staalnames kan als volgt gepland worden:



4.2. Filtratieprocedure stadswater

- Draag hiervoor een overall (100% katoen), met geschikte onderkledij (niet synthetisch). Was de handen met ecover handzeep.
- Als alternatief voor het filteren van stadswater (op de hieronder beschreven manier) ter productie van spoelwater, kan ook Milli-Q water gebruikt worden dat een eindfiltratie kent over 0.22µm. Een dergelijke productie van spoelwater (MQ-water) volgt wel dezelfde principes als hieronder beschreven (bvb. voorspoelen van flessen).
- Benodigd materiaal:

1	Glazen filtratieopstelling voor filters met diameter 47mm voorzien van 1L-trechter en 4L-opvangkolf (nooit gebruikt voor andere toepassingen). Wikkel of sluit af in aluminiumfolie voor bewaring.
2	Filters Supor 800 : 0,8µm poriëndiameter, D47mm
3	Vacuümpomp met aansluitingen
4	10L Glazen flessen (gereinigd – zie sectie 4.3)
5	Aluminiumfolie

Filtratieprocedure:

1e gebruik filtratieopstelling (nieuwe opstelling):

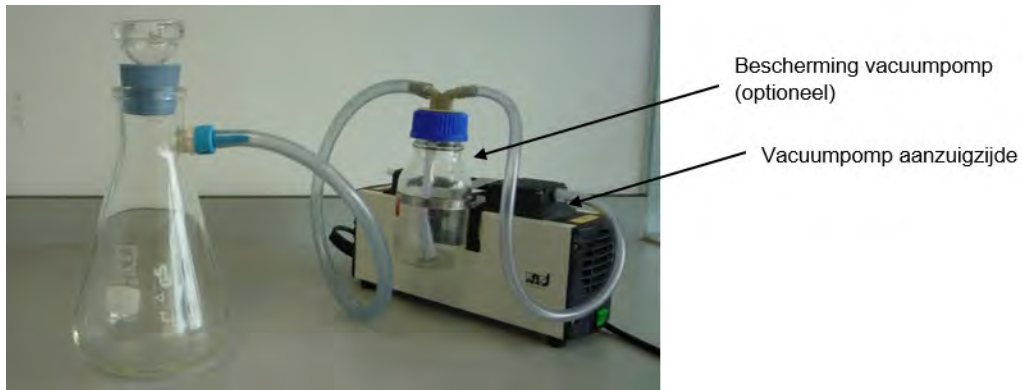
- Zowel de opvangfles, als de filterhouder en trechter worden gereinigd met detergent (Ecover).
- Naspoelen met (niet-gefiltreerd) stadswater.

Effectieve filtratie:

Opmerking bij afbeeldingen:

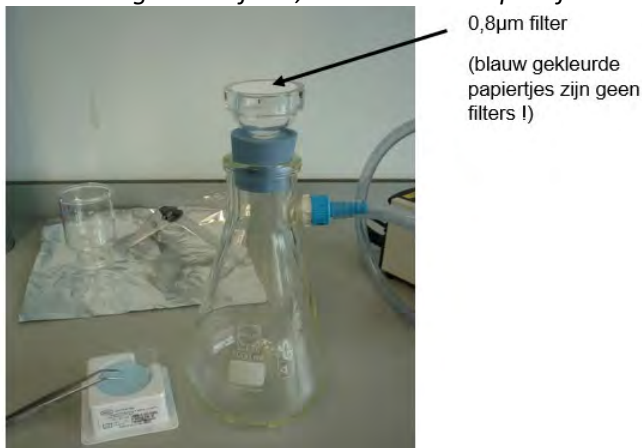
De aanbevolen glazen filtratieopstelling wijkt in beperkte mate af van de opstelling in de afbeeldingen (volume trechter, volume opvangfles, en montage van filterhouder op opvangfles gebeurt via een slijpstuk i.p.v. een rubberen stop).

- Monteer de glazen filtratie-eenheid en verbind met de vacuumpomp.



- Leg een 0.8µm Supor filter op de filterhouder.

Opmerking : de (witte) filters liggen steeds tussen 2 blauwe papertjes. Deze dienen als bescherming van de filter, en dienen niet op de filterhouder geplaatst te worden.



- Monteer de glazen trechter. Klem vast met bijhorende klem.



- Vul de trechter volledig met 1L stadswater en filtreer onder vacuüm.
- Spoel de opvangfles met de 1L gefiltreerd stadswater d.m.v. omzwenken.
- Verwijder dit gefiltreerd stadswater (1L).
- Start het filtreren van het nodige volume stadswater (zie sectie 4.3). Voorzie steeds extra gefiltreerd stadswater. Een teveel aan spoelwater kan perfect later gebruikt worden.
- Vervang de filter indien de filtratie moeilijk begint te verlopen.
- Verzamel het water in voorgespoelde (zie sectie 4.3) glazen flessen (10L – zonder blauwe ring).

- Sluit de flessen af met aluminium folie tussen dop en hals (zie sectie 4.3).
- Demonteer de opstelling. Wikkel de glazen filterhouder en trechter in aluminium folie. Sluit de opvangkolf af met aluminiumfolie. Bewaar het materiaal in een kast of afgesloten doos in de voorbehouden ruimte.

4.3. Voorbereiding materiaal in labo

- Draag hiervoor een overall (100% katoen – voorbehouden voor de handelingen in het labo), met geschikte onderkledij (niet synthetisch – zie ook voorwaarden voor eigenlijke staalname).
- Handen wassen met ecover handzeep.
- Voldoende spoelwater (gefiltreerd stadswater of MQ-water) voorzien voor het voorspoelen van het materiaal in het labo en op de RWZI site (zie sectie 4.2 voor filtratie stadswater).
 - o Voorzie voldoende spoelwater voor het reinigen van het staalname materiaal (zie volumes hieronder en opgedane ervaring tijdens het project). Plaats steeds aluminiumfolie tussen dop en hals van de 10L fles.
 - o Overzicht benodigd volume spoelwater (mag MQ water zijn) voor op de RWZI site per staalnamehandeling :

▪ Handen wassen vóór staalname	0,5L per persoon en matrix
▪ Voorspoelen materiaal “slib”	1,5L per staalnamedag
▪ Voor en naspoelen materiaal “drijf”	10L per staalnamedag
▪ Voorspoelen materiaal “zand”	1,5L per staalnamedag
▪ Per staalnameweek op een RWZI site is het bijgevolg aangeraden om drie 10L flessen spoelwater mee te nemen, indien ingedikt slib, drijvende fractie en zand dient bemonsterd te worden.	
- Bereid voldoende Blanco/Controle water, resp. gefiltreerd (stads-) spoelwater voor de monsternamekasten.
Dit water dient gefiltreerd stadswater (0,8µm) te zijn.
Voorzie voor de Blanco/Controle in totaal negen 10L flessen met 11L gefiltreerd stadswater. Voor het spoelwater is dit minstens 2x 6 L per staalnameweek (influent + effluent). Plaats steeds aluminiumfolie tussen dop en hals van de 10L fles. Eén fles dient als referentie. De andere flessen zullen gebruikt worden voor de blanco/controle bemonstering van de monsternamekasten van resp. het influent en het effluent.
- Transportvoertuig (=camionet) : Reinigen voor start staalnameweek.
- Staalname materiaal reinigen
(zie benodigd materiaal per matrix in sectie 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6):
 - o Voor elke staalnamedag: reinigen met detergent (Ecover) en niet-gefiltreerd stadswater.
 - o Naspoelen met spoelwater.
 - o Laten drogen/uitlekken in een voorbehouden lokaal of ruimte met beperkte toegang (op absorberend papier plaatsen en bekertjes, emmers en dergelijk materiaal omdraaien).
 - o Kleine inox trechters, lepels, scheppen na drogen in een 12L emmer steken en afsluiten met deksel en tesa tape.
- Alle reservetubing spoelen met voldoende (>10L) niet-gefiltreerd stadswater
 - o De tubing die aangesloten is op de monsternamekast dient niet apart te worden gespoeld.
 - o De tubing kan op een kraan aangesloten worden om te spoelen.

- o Na het spoelen moeten de openingen van de tubing afgesloten worden met aluminiumfolie.
- Nieuwe staalname recipiënten (10L flessen, 2L en 4L bokalen) voorspoelen:
 - o Blauwe ring verwijderen (indien nog aanwezig op de 10L flessen).
 - o Spoelen met spoelwater.
 - o Nog aanwezige water gedurende 10sec “uitschudden”.
 - o Sluiten met aluminiumfolie tussen dop en flessenhals. Aluminium folie een beetje indrukken om beschadiging tegen te gaan.
- Opnieuw te gebruiken staalname recipiënten (10L flessen, 2L en 4L bokalen, 12L inox emmers, inox bak) reinigen en voorspoelen:
 - o Reinigen met detergent (Ecover) en niet-gefiltreerd stadswater.
 - o Spoelen met niet-gefiltreerd stadswater.
 - o Spoelen met spoelwater.
 - o Nog aanwezige water gedurende 10sec “uitschudden”.
 - o Sluiten met aluminiumfolie tussen dop en flessenhals. Aluminium folie een beetje indrukken om beschadiging tegen te gaan.



- Waterbestendige etiketten schrijven (zie staalnameoverzicht) en op recipiënten aanbrengen. 2L en 4L-bokalen (voor de staalname van slib, zand en de “drijvende fractie”) worden gelabeld op het deksel.

- o De labelling voor de milieustaalname wordt standaard op de volgende manier geschreven:

<i>UG – VMM – MP project</i>		
<i>JJJMMDD – RWZI locatie</i>		
<i>Matrix – Nr</i>	+	<i>niets</i>
	+	<i>(Bl) = Blanco staal</i>
	+	<i>(G) = getuige staal</i>
	+	<i>(D) = demo staal</i>

- o Als voorbeeld wordt hieronder weergegeven hoe de recipiënten voor de staalname in Destelbergen, in de week van 3-7 juni 2019, worden/werden gelabeld:

Influent (Infl)

<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190604 – RWZI Destelbergen</i> <i>Infl – 001</i>	<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190604 – RWZI Destelbergen</i> <i>Infl – 002 (G)</i>
<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190605 – RWZI Destelbergen</i> <i>Infl – 003</i>	<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190605 – RWZI Destelbergen</i> <i>Infl – 004 (G)</i>
<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190606 – RWZI Destelbergen</i> <i>Infl – 005</i>	<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190606 – RWZI Destelbergen</i> <i>Infl – 006 (G)</i>

Effluent (Effl)

<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190604 – RWZI Destelbergen</i> <i>Effl – 001</i>	<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190604 – RWZI Destelbergen</i> <i>Effl – 002 (G)</i>
<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190605 – RWZI Destelbergen</i> <i>Effl – 003</i>	<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190605 – RWZI Destelbergen</i> <i>Effl – 004 (G)</i>
<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190606 – RWZI Destelbergen</i> <i>Effl – 005</i>	<i>UG – VMM – MP project</i> <i>20190606 – RWZI Destelbergen</i> <i>Effl – 006 (G)</i>

Ingedikt slib (Slib)

Verwijderde drijvende fractie in bezinkingsbekken (Drijf)

Verwijderde fractie in zandvang (Zand)

- Staalname kledij
 - o Overall en eventueel nodige leren handschoenen altijd in katoenen zak meenemen.
 - o Olie regenjas altijd in aparte katoenen zak meenemen.
 - o Eigen basiskledij controleren (niet synthetisch) vóór het vertrek en eventueel aanpassen.

- Materiaal checklist (standaardmateriaal en per matrix) controleren (zie secties 3, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5 en 5.6).

5. Staalnameprocedures

5.1. Algemene handelingen op de RWZI site

- Basiskledij controleren op synthetische samenstelling en indien mogelijk aanpassen.
- Vooraleer het materiaal wordt klaar gezet en vóór elke handeling die betrekking heeft tot de staalname, moeten de overall (bewaard in katoenen zak) en de voorziene veiligheidsschoenen worden aangetrokken.
- Handen wassen met ecover handzeep en spoelwater (10L fles spoelwater).
- Wanneer er contact mogelijk is met één van de diverse stalen moeten korte lederen handschoenen worden aangedaan
- Na de diverse staalnamehandelingen:
 - Dient de kledij (overall, olieregenvest, handschoenen) terug in de resp. katoenen zak worden opgeborgen.
 - Moet de metadata file aangevuld worden
- Er dient per staalnameweek minstens 1 foto per staalnamepunt en per matrix genomen worden.
- Laat de doppen van de staalname recipiënten nooit open aan de lucht liggen. Wikkel deze in aluminiumfolie en leg deze tijdens de staalname in het bovenste deel van de monsternamekast
- Alle gevulde recipiënten moeten tot het einde van de staalnameweek en het transport naar GhEnToxLab-UGent bewaard worden in een donkere ruimte (indien mogelijk gekoeld).

5.2. Staalname RWZI influent

Benodigd materiaal per monsternamekast op de RWZI site:

1	Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3)
2	Gereinigde monsternamekast (zie verder in deze sectie en spoelprogramma annex 3)
3	Verschillende lengtes voorgespoelde tubing (afgesloten met alu-folie) om aan te sluiten op de monsternamekast
4	10L glazen flessen (2 per staalnamedag x 3 staalnamedagen + 2 test/reserve flessen), gereinigd, voorgespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3)
5	2 kleine inox trechters
6	6 standaard paletten (14,4 x 80 x 120 cm)
7	1 palet (14,4 x 80 x 120 cm) met een volle plaat langs boven
8	2 Spanriemen

Benodigd materiaal per monsternamekast in het labo voor de spoel- en blanco/controler programma's :

1	Alumniumfolie
2	min. 30L niet gefiltreerd stadswater
3	min. 6L gefiltreerd stadswater (0,8µm) – geen MQ !!!

Let op:

- ***De bemonstering dient manueel gestopt te worden na de aangegeven tijden. Het is niet mogelijk om een aantal monsters of een tijd in te geven.***
- ***Controleer steeds de instellingen van het programma vooraleer te starten.***

Installatie monsternamekast en testprogramma (zie annex 3)

- Influent stalen moeten zo dicht mogelijk na de fijnroosters genomen worden en vóór de eerst volgende stap in de afvalwater behandeling. Er mag ook nog geen retourslib toevoegd zijn van aan het bemonsterde influent.
- De monsternamekast moet zo dicht mogelijk bij het hierboven beschreven staalnamepunt staan. Dit om de benodigde tubing zo kort mogelijk te houden.
- De tubing die vanuit de monsternamekast vertrekt naar het staalnamepunt mag niet stijgen. Daarom moet de monsternamekast op een bepaalde hoogte geïnstalleerd te worden.
 - o Hiervoor kunnen er paletten gebruikt worden. De bovenste palet dient langs boven volledig toe te zijn.
 - o Met de laadbrug van de VMM camionet kan een hoogte tot circa 70cm overwonnen worden. Op die manier moet de monsternamekast niet opgetild worden.
 - o Met behulp van de 2 spanriemen kunnen de paletten en de monsternamekast vast gemaakt worden.
- De tubing wordt op het staalnamepunt in het influent water gelaten.
 - o Gebruik een gepaste lengte aan tubing (zo kort mogelijk) zodat het bemonsterde influent zo weinig mogelijk in contact komt met deze tubing.
 - o Deze tubing moet vooraf reeds gespoeld zijn niet-gefiltreerd stadswater
- Open de 2 testflessen (glazen 10L recipiënten), plaats deze in de monsternamekast.
- Plaats op elke fles een kleine inox trechter
- Start het testprogramma (zie annex 3 voor details van dit testprogramma) van de monsternamekast en controleer of het influent naar behoren bemonsterd wordt (correct staalnamevolume (= 200 mL), retour overmatig bemonsterd water, instroom in glazen 10L recipiënten wanneer deze op de aangeduide positie staan)
- Laat het testprogramma lopen tot er minstens 6 stalen (3/fles) genomen zijn.
- Na bevestiging van een goede staalname a.d.h.v. dit testprogramma mogen de testflessen worden leeg gemaakt (terug bij de influent stroom)

Effectieve staalnameprogramma (zie annex 3)

Dag 1

- Plaats 2 lege 10L flessen (voorgespoeld en gelabeld) in de monsternamekast op de aangeduide positie (deze flessen **niet** meer spoelen op de RWZI site).
- Wikkel de doppen van de staalname recipiënten in aluminiumfolie en leg deze tijdens de staalname in het bovenste deel van de monsternamekast
- Plaats de 2 kleine inox trechters op deze flessen.
- Start het 24u monsternameprogramma (zie annex 3 voor details van dit monsternameprogramma)
- De start en stopzetting van deze staalname mag zowel 's ochtends als 's middags gebeuren.

Dag 2

- De staalname dient gedurende 24±2u te lopen. Na deze tijdsperiode wordt de staalname manueel stopgezet.
- De gevulde flessen (8-11 L) worden met nieuwe aluminiumfolie tussen hals en dop afgesloten.
- Plaats 2 lege 10L flessen (voorgespoeld en gelabeld) in de monsternamekast en herhaal de handelingen zoals beschreven voor dag 1.

Dag 3

- De staalname dient gedurende 24±2u te lopen. Na deze tijdsperiode wordt de staalname manueel stopgezet.
- De gevulde flessen (8-11 L) worden met nieuwe aluminiumfolie tussen hals en dop afgesloten.
- Plaats 2 lege 10L flessen (voorgespoeld en gelabeld) in de monsternamekast en herhaal de handelingen zoals beschreven voor dag 1.

Dag 4

- De staalname dient gedurende 24±2u te lopen. Na deze tijdsperiode wordt de staalname manueel stopgezet.
- De gevulde flessen (8-11 L) worden met nieuwe aluminiumfolie tussen hals en dop afgesloten.
- Controleer of de metadata fiche volledig is ingevuld en of er minstens 1 foto per staalnamepunt en per week (zie sectie 6.1) is genomen.

Spoelprogramma (zie annex 3)

- Het spoelprogramma wordt uitgevoerd in het labo, **na iedere staalnameweek** en zo kort mogelijk na de effectieve staalnames.
- De details van dit programma zijn opgesomd in annex 3.
- Het te bemonsteren water is opeenvolgend 30L niet-gefiltreerd stadswater en 6L gefiltreerd stadswater (0,8µm)
- Er mag **GEEN** MQ water gebruikt worden aangezien dit de werking van monsternamekast verstoort.
- Indien geen blanco/controle staal dient geproduceerd te worden, wordt het uiteinde van de tubing afgesloten met aluminiumfolie.

Blanco/controle programma (zie annex 3)

- Indien vereist (zie algemeen staalname overzicht) dient een blanco/controle staal te worden geproduceerd in het labo. Dit gebeurt aansluitend op het spoelprogramma en zo kort mogelijk na de effectieve staalname.
- De details van dit programma zijn opgesomd in annex 3.
- Het te bemonsteren water is gefiltreerd stadswater (0,8µm) en GEEN MQ water aangezien dit de werking van monsternamekast verstoort.
- Na afloop wordt het uiteinde van de tubing afgesloten met aluminiumfolie.

5.3. Staalname RWZI effluent

Benodigd materiaal per monsternamekast:

1	Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3)
2	Gereinigde monsternamekast (zie spoelprogramma annex 3)
3	Verschillende lengtes voorgespoelde tubing (afgesloten met alu-folie) voor aan te sluiten op de monsternamekast
4	10L glazen flessen (2 per staalnamedag x 3 staalnamedagen + 2 test/reserve flessen), gereinigd, voorgespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3)
5	2 kleine inox trechters
6	1 plaat (80cmx80cm, indien de monsternamekast op een rooster moet staan)

Benodigd materiaal per monsternamekast in het labo voor de spoel- en blanco/controle programma's :

1	Alumniumfolie
2	min. 30L niet gefiltreerd stadswater
3	min. 6L gefiltreerd stadswater (0,8µm) – geen MQ !!!
4	Blanco/controle staal = 11L gefiltreerd stadswater (0,8µm)

Let op:

- ***De bemonstering dient manueel gestopt te worden na de aangegeven tijden. Het is niet mogelijk om een aantal monsters of een tijd in te geven.***
- ***Controleer steeds de instellingen van het programma vooraleer te starten.***

Installatie monsternamekast en testprogramma (zie annex 3)

- Effluent stalen moeten zo dicht mogelijk na het samenkomen van alle effluent stromen (uit verschillende bezinkingsbekkens) genomen worden.
- De monsternamekast moet zo dicht mogelijk bij het hierboven beschreven staalnamepunt staan. Dit om de benodigde tubing zo kort mogelijk te houden.
- Indien de monsternamekast op een rooster geplaatst moet worden kan een plaat gebruikt worden om een effen oppervlak te creëren.
- De tubing die vanuit de monsternamekast vertrekt naar het staalnamepunt mag niet stijgen.
 - o Dit is echter geen probleem voor effluent staalname gezien de tubing reeds op een hoogte van meer dan 1,2m uit de kast vertrekt.
- De tubing wordt op het staalnamepunt in het effluent water gelaten.
 - o Gebruik een gepaste lengte aan tubing (zo kort mogelijk) zodat het bemonsterde effluent zo weinig mogelijk in contact komt met deze tubing.
- Open de 2 testflessen (glazen 10L recipiënten), plaats deze in de monsternamekast.
- Plaats op elke fles een kleine inox trechter
- Start het testprogramma (zie annex 3 voor details van dit testprogramma) van de monsternamekast en controleer of het effluent naar behoren bemonsterd wordt (correct staalnamevolume (= 200 mL), retour overmatig bemonsterd water, instroom in glazen 10L recipiënten wanneer deze op de aangeduide positie staan)
- Na bevestiging van een goede staalname a.d.h.v. dit testprogramma mogen de testflessen worden leeg gemaakt (terug bij de effluent stroom)

- De gebruikte kleine inox trechters worden ten slotte gespoeld met spoelwater

Effectieve staalnameprogramma (zie annex 3)

Dag 1

- Plaats 2 lege 10L flessen (voorgespoeld en gelabeld) in de monsternamekast op de aangeduide positie (deze flessen **niet** meer spoelen op de RWZI site).
- Wikkel de doppen van de staalname recipiënten in aluminiumfolie en leg deze tijdens de staalname in het bovenste deel van de monsternamekast
- Plaats de 2 kleine inox trechters op deze flessen.
- Start het 24u monsternameprogramma (zie annex 3 voor details van dit monsternameprogramma)
- De start en stopzetting van deze staalname mag zowel 's ochtends als 's middags gebeuren.

Dag 2

- De staalname dient gedurende 24±2u te lopen. Na deze tijdsperiode wordt de staalname manueel stopgezet.
- De gevulde flessen (8-11 L) worden met nieuwe aluminiumfolie tussen hals en dop afgesloten.
- Plaats 2 lege 10L flessen (voorgespoeld en gelabeld) in de monsternamekast en herhaal de handelingen zoals beschreven voor dag 1.

Dag 3

- De staalname dient gedurende 24±2u te lopen. Na deze tijdsperiode wordt de staalname manueel stopgezet.
- De gevulde flessen (8-11 L) worden met nieuwe aluminiumfolie tussen hals en dop afgesloten.
- Plaats 2 lege 10L flessen (voorgespoeld en gelabeld) in de monsternamekast en herhaal de handelingen zoals beschreven voor dag 1.

Dag 4

- De staalname dient gedurende 24±2u te lopen. Na deze tijdsperiode wordt de staalname manueel stopgezet.
- De gevulde flessen (8-11 L) worden met nieuwe aluminiumfolie tussen hals en dop afgesloten.
- Controleer of de metadata fiche volledig is ingevuld en of er minstens 1 foto per staalnamepunt en per week (zie sectie 6.1) is genomen.

Spoelprogramma (zie annex 3)

- Het spoelprogramma wordt uitgevoerd in het labo, **na iedere staalnameweek** en zo kort mogelijk na de effectieve staalnames.
- De details van dit programma zijn opgesomd in annex 3.
- Het te bemonsteren water is opeenvolgend 30L niet-gefiltreerd stadswater en 6L gefiltreerd stadswater (0,8µm)
- Er mag **GEEN** MQ water gebruikt worden aangezien dit de werking van monsternamekast verstoort.
- Indien geen blanco/controle staal dient geproduceerd te worden, wordt na afloop het uiteinde van de tubing afgesloten met aluminiumfolie.

Blanco/controle programma (zie annex 3)

- Indien vereist (zie algemeen staalname overzicht) dient een blanco/controle staal te worden geproduceerd in het labo. Dit gebeurt aansluitend op het spoelprogramma en zo kort mogelijk na de effectieve staalname.
- De details van dit programma zijn opgesomd in annex 3.
- Het te bemonsteren water is gefiltreerd stadswater (0,8µm) en GEEN MQ water aangezien dit de werking van monsternamekast verstoort.
- Na afloop wordt het uiteinde van de tubing afgesloten met aluminiumfolie.

5.4. Staalname ingedikt slib

(enkel voor RWZI Grimbergen en RWZI Aartselaar)

Ter ondersteuning : een visueel schematisch overzicht is beschikbaar in annex 4.

Benodigd materiaal:

1	Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3) – o.a. aluminium folie en spoelwater
2	12L inox emmer met deksel, gereinigd en voorgespoeld (zie sectie 4.3 – elke dag opnieuw reinigen en spoelen)
3	2L glazen bokaal (2 per staalnamedag x 3 staalnamedagen + 2 reserve), gereinigd, voorgespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3)
4	metalen lepel(s) en schep(pen), gereinigd en voorgespoeld (elke dag opnieuw reinigen & spoelen)
5	Korte lederen handschoenen (in katoenen zak)
6	Betonplex plaat (90cmx60cm)

Timing :

De slib staalname wordt uitgevoerd op het einde van elke staalnamedag (laatste 2u). Bvb: indien staalnamedag 1 om 14u start wordt het overkomstig slib staal genomen de dag nadien tussen 12u en 14u.

Ter ondersteuning zie het planning voorbeeld in sectie 4.1.

Effectieve slib staalname (1 replicaat + 1 getuigestaal)

- Zet twee lege **2L bokaal** klaar op een **betonplex plaat** en dit liefst buiten het gebouw waarin de slib indiktafel opgesteld staat (deze bokaal **niet** meer spoelen in het veld).
- Reinig/spoel het benodigde materiaal.
 - o De metalen schep kan in de 12L inox emmer (met deksel) worden meegenomen.
 - o Gebruik een vel aluminiumfolie om de metalen schep tussendoor neer te leggen (= een proper oppervlak). Deze aluminiumfolie wordt ook gebruikt om de binnenkant van het deksel van de inox emmer op een proper oppervlak te kunnen leggen.
 - o Wikkel na de staalname de schep in de aluminiumfolie zodat deze tussen staalname en homogeniseren/verdelen niet meer hoeft gespoeld te worden.

- M.b.v. een **metalen schep** worden substalen genomen op het einde van de indiktafel en dit over de volledige breedte.
 - Indien er slechts langs 1 zijde van de indiktafel makkelijk stalen kunnen worden genomen, worden de substalen verdeeld over deze helft van de indiktafel (midden tot zijkant).
- Neem substalen tot een totaal volume van 5L.
- Alle substalen worden verzameld in een **12L inox emmer** die vervolgens met het **deksel** wordt afgedekt en wordt meegenomen naar de 2L bokalen die buiten het gebouw staan.
- Homogeniseer het slib in de 12L inox emmer met de metalen schep (en/of **metalen lepel**).
- Vul vervolgens afwisselend de twee 2L bokalen met de metalen schep (en/of **metalen lepel**) tot de bokalen 80-90% gevuld zijn. De 2^e gevulde bokaal is het getuigestaal.
- Sluit de bokalen met aluminium folie tussen dop en hals.

Kledij (overall, olieregenvest, handschoenen) terug in katoenen zak opbergen.

Vervolledig de metadata file en neem een foto (zie sectie 6.1).

5.5. Staalname drijvende fractie in bezinkingsbekken (enkel voor RWZI Grimbergen en RWZI Aartselaar)

Ter ondersteuning : een visueel schematisch overzicht is beschikbaar in annex 5.

Benodigd materiaal:

1	Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3) – o.a. aluminium folie en spoelwater
2	10µm planktonnet (diameter 25cm, lengte 50cm, gemonteerd op metalen frame), gereinigd en voorgespoeld (zie sectie 4.3 - elke dag opnieuw reinigen en spoelen). Transporteer in katoenen zak.
3	1 reserve planktonnet (niet gemonteerd) en 1 reserve collector (10µm) , gereinigd en voorgespoeld (zie sectie 4.3)
4	Verlengstukken steel planktonnet (tot 3,5m)
5	4L glazen bokalen (1 per staalnamedag x 3 staalnamedagen + 2 reserve), gereinigd, voorgespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3) (Er worden geen getuigestalen genomen van de drijfslag).
6	10L (MQ) spoelwater / dag x 3 dagen = 30L spoelwater / staalnameweek
7	Inox beker met handvat, gereinigd en voorgespoeld (zie sectie 4.3 - elke dag opnieuw reinigen en spoelen)
8	Betonplex plaat (90cmx60cm)
9	Korte lederen handschoenen (in katoenen zak)

Let op:

Belangrijk bij de staalname van de drijfslag van de bezinkingsbekkens is dat de tijd die de afschraper nodig heeft om het bekken rond te gaan wordt gemeten. Deze info wordt genoteerd op de metadatafiche en ingevuld op het online spreadsheet.

Timing :

De drijfslag staalname wordt uitgevoerd na de start van elke staalnamedag (eerste 2u) en na het einde van de laatste en derde staalnamedag (max 2u na het einde). Bvb: indien staalnamedag 1 om

14u start worden de drijfslag stalen op het begin van staalnamedag 1, 2 & 3 genomen tussen 14u en 16u. Alsook op het begin van “dag 4” (na het einde van dag 3) tussen 14u en 16u.

Ter ondersteuning zie het planning voorbeeld in sectie 4.1.

Blanco/controlle staalname

(zie staalnameoverzicht of deze moet behandeld worden, standaard wordt deze telkens op dag 1 van een RWZI staalnameweek genomen)

- Deze blanco/controlle staalname wordt uitgevoerd vóór de effectieve staalname.
- Een **lege 4L bokaal** (gespoeld en gelabeld in het labo) op **betonplex plaat** zetten (deze bokaal **niet** meer spoelen in het veld).
 - Het planktonnet en de collector mogen na afspoelen ook op de betonplex plaat gelegd worden.
- **Planktonnet en collector** losdraaien en apart spoelen met (MQ) spoelwater ($\pm 1L$).
- Productie van het blanco staal:
 - Collector monteren op het planktonnet en $\pm 1L$ (MQ) spoelwater m.b.v. maatbeker door het net gieten.
 - Planktonnet en collector losdraaien.
 - Het voorziene recipiënt (i.e. 4L bokaal) openen en het planktonnet (zonder collector) erin afspoelen ($= \pm 1L$ (MQ) spoelwater door het net gieten).
 - De collector die nog steeds gesloten is 3x vullen met (MQ) spoelwater en uitgieten in de 4L bokaal (voorziene recipiënt).
 - De collector nogmaals vullen met (MQ) spoelwater, het kraantje opendraaien en het water opvangen in de 4L bokaal.
 - De 4L bokaal sluiten met aluminium folie tussen dop en hals.
- De collector terug monteren aan het planktonnet en het eerste bezinkingsbekken bemonsteren (zie effectieve staalname).

Effectieve drijfslag staalname (1 replicaat zonder getuigestaal!)

- Lege **4L bokaal** (gespoeld en gelabeld in het labo) op **betonplex plaat** zetten (deze bokaal **niet** meer spoelen in het veld).
 - Het **planktonnet en de collector** mogen na afspoelen ook op de betonplex plaat gelegd worden.
- De drijfslag die zich in het verzamelvierkant van de afschraper van het 1^e bezinksbekken bevindt wordt m.b.v. het planktonnet bemonsterd en dit net vóór de afschraper het verwijderingspunt bereikt (1-3 m voor dit punt).
 - Het planktonnet moet traag uit het water gehaald worden, om de steel van het planktonnet niet te breken onder het gewicht.
 - De staalname wordt uitgevoerd door naast het bezinkingsbekken (net vóór het verwijderingspunt) plaats te nemen. De loopbrug wordt niet gebruikt.
- Nadat het planktonnet uit het water is gehaald, wacht je tot het waterniveau onder de overgang tussen net en collector is gedaald.
- Maak vervolgens de collector los van het net en start de afspoel/verzamelprocedure:
 - Planktonnet en collector losdraaien.
 - Het voorziene recipiënt (i.e. 4L bokaal) openen en het planktonnet (zonder collector) erin afspoelen ($= \pm 0,5L$ (MQ) spoelwater m.b.v. maatbeker door het net gieten).
 - De collector die nog steeds gesloten is 1x vullen met (MQ) spoelwater en uitgieten in de 4L bokaal (voorziene recipiënt).
 - De 4L bokaal sluiten met aluminium folie tussen dop en hals.

- Monteer de collector terug op het planktonnet en herhaal de staalname en afspoel/verzamelprocedure voor het volgende bezinkingsbekken (zonder het planktonnet te reinigen of te spoelen).
 - Het afspoel/verzamel water wordt bij de voorgaande fractie(s) in dezelfde 4L bokaal gevoegd.
- Voor de laatste afspoel/verzamelprocedure (laatste bezinkingsbekken) wordt dezelfde afspoel/verzamelprocedure gebruikt als bij de blanco staalname:
 - Planktonnet en collector losdraaien.
 - Hetzelfde recipiënt (i.e. 4L bokaal met voorgaande fracties) openen en het planktonnet (zonder collector) erin afspoelen (= ±1L (MQ) spoelwater m.b.v. maatbeker door het net gieten).
 - De collector die nog steeds gesloten is 3x vullen met (MQ) spoelwater en uitgieten in de 4L bokaal (voorzien recipiënt).
 - De collector nogmaals vullen met (MQ) spoelwater, het kraantje opendraaien en het water opvangen in de 4L bokaal.
 - De 4L bokaal sluiten met aluminium folie tussen dop en hals.

Kledij (overall, olieregenvest, handschoenen) terug in katoenen zak opbergen.

Vervolledig de metadata file en neem een foto (zie sectie 6.1).

5.6. Staalname verwijderde fractie zandvanger

(enkel voor RWZI Aartselaar)

Ter ondersteuning : een visueel schematisch overzicht is beschikbaar in annex 6.

Benodigd materiaal:

1	Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3) – o.a. aluminium folie en spoelwater
2	Inox bak (630x450x90mm)
3	Metalen lepel(s) en schep(pen), gereinigd en voorgespoeld (zie sectie 4.3 – elke dag opnieuw reinigen en spoelen)
4	Personenweegschaal (Min. nauwkeurigheid van 0,1kg)
5	2L glazen bokaal (2 per staalnamedag x 3 staalnamedagen + 2 reserve), gereinigd, voorgespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3)
6	4 houten planken 2,8m lang en circa 10cm breed
7	2 Betonplex platen (90cmx60cm), 1 permanent nodig en 1 die ook voor andere staalnames op de site wordt gebruikt
8	Korte lederen handschoenen (in katoenen zak)

Let op:

Belangrijk bij deze staalname is dat de massa van het verwijderde zand nauwkeurig wordt bepaald op dagelijkse basis. Daarom moet ook de lege inox bak (éénmaal) gewogen worden om de netto massa van het verzamelde verwijderde zand te berekenen.

Timing :

Het verwijderde zand wordt gedurende 24u opgevangen en op het einde (laatste 2u) van elke staalnamedag gewogen en bemonsterd. Bvb: indien staalnamedag 1 om 14u start wordt het verzamelde verwijderde zand op het einde van staalnamedag 1, 2 & 3 gewogen en bemonsterd tussen 12u en 14u. Ter ondersteuning zie het planning voorbeeld in sectie 4.1.

Verzamelen van verwijderd zand uit de zandvanger

- Op voorhand wordt de zandcontainer geledigd en het zand dat nog aanwezig is op de transportband(en) zo goed als mogelijk verwijderd.
- Mocht er nog zand in de container aanwezig zijn, moet dit naar de kant van de container worden geveegd/geduwd.
- De houten planken worden in de breedte op de randen van de container gelegd. Vervolgens wordt één van de betonplex platen afgespoeld met (MQ) spoelwater en hierop gelegd. Deze betonplex plaat zal gedurende de staalnameweek niet voor andere toepassingen gebruikt kunnen worden.
- Weeg de [inox bak](#) met de weegschaal en noteer het leeg gewicht op de metadata fiche.
- De [inox bak](#) wordt gereinigd en voorgespoeld met (MQ) spoelwater en op de betonplex plaat gezet. Deze inox bak wordt zo gepositioneerd dat het zand van de transportband hier in kan vallen.

Op staalnamedag 2 en 3 gebeurt deze opstelling op dezelfde manier te beginnen bij het reinigen en spoelen van de betonplex plaat.

Effectieve zand staalname (1 replicaat + 1 getuigestaal)

- Spoel een 2^e betonplex plaat met (MQ) spoelwater om een proper werkoppervlak te hebben voor het homogeniseren en de substaalname.
- Zet twee lege [2L bokalen](#) klaar op de [betonplex plaat](#).
- Na elke staalnamedag wordt eerst de transportband leeg gemaakt, waarbij deze fractie in de inox bak wordt opgevangen. Vervolgens wordt de inox bak gewogen met de weegschaal. Noteer de massa van het verzamelde zand (incl. de inox bak) op de metadata fiche.
- Homogeniseer het verzamelde zand in de inox bak met de [metalen schep](#).
- Vul vervolgens afwisselend de twee 2L bokalen met de metalen schep (en/of [metalen lepel](#)) tot de bokalen 80-90% gevuld zijn. De 2^e gevulde bokaal is het getuigestaal.
- Sluit de bokalen met aluminium folie tussen dop en hals.
- Indien er zand op de betonplex plaat en/of de planken ligt, of in de container is gevallen wordt dit na de staalname ook verzameld in de (lege) inox bak en gewogen. Dit zand werd die dag namelijk ook verwijderd en is dus van belang om de totale massa te bepalen. Noteer deze massa (incl. de inox bak) van de fractie die naast de inox bak viel, ook op de metadatafiche.
- Na het wegen en de effectieve staalname mag de “restfractie” zand naar een kant van de container worden overgebracht.
- Reinig en spoel de inox bak voor de volgende staalnamedag of om deze proper terug mee te nemen.

Kledij (overall, olieregenvest, handschoenen) terug in katoenen zak opbergen.

Vervolledig de metadata file en neem een foto (zie sectie 6.1).

6. Afhandeling staalname

6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches

- Indien mogelijk, de stalen koel (4-10°C) bewaren tot transport naar UGent.
- Invullen van de verzamelde metadata op de daarvoor voorziene online spreadsheet.
 - Deze online spreadsheet wordt door de UGent aangemaakt en gemodereerd.
- Alle metadata veldfiches (originele papieren versie) verzamelen bij een daarvoor aangewezen VMM medewerker.
- De beste foto per matrix van de staalnamelocatie opslaan in een daarvoor voorziene online dropbox map.
 - De dropbox map wordt door een VMM medewerker aangemaakt en gemodereerd (conform met bestaande systemen).
 - Foto's moeten nadien als volgt worden benoemd (gelijkaardig aan labelling):
JJJJMMDD_RWZI_LOCATIE_MATRIX
 - Het centrum van de foto bevat steeds de plaats waar het staal werd genomen en omvat best een herkenbaar punt (deel van RWZI installatie).

6.2. Transport van stalen naar UGent

- Per staalnameweek worden de stalen aan de UGent bezorgd.

Bijlage 3. Staalnameprocedure voor microplastics in run-off waterstalen en atmosferische depositie.

Inhoudstabel

Inhoudstabel	37
1. Doel	40
2. Algemene opmerkingen.....	40
3. Benodigdheden.....	40
4. Voorbereidingen	40
4.1. Planning	41
4.2. Filtratieprocedure stadswater	41
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	43
5. Staalnameprocedures	47
5.1. Algemene voorbereidingen in het veld	47
5.2. Staalname oppervlaktewater	48
5.3. Staalname sediment	49
5.4. Staalname biota	51
6. Afhandeling staalname	53
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	53
6.2. Transport van stalen naar UGent	53
Inhoudstabel	54
1. Doel	57
2. Algemene opmerkingen.....	57
3. Benodigdheden.....	57
4. Voorbereidingen	57
4.1. Planning	57
4.2. Filtratieprocedure stadswater	59
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	61
5. Staalnameprocedures	64
5.1. Algemene handelingen op de RWZI site	64
5.2. Staalname RWZI influent	64
5.3. Staalname RWZI effluent	66
5.4. Staalname ingedikt slib	69

5.5. Staalname drijvende fractie in bezinkingsbekken	70
6. Afhandeling staalname	74
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	74
6.2. Transport van stalen naar UGent	74
Inhoudstabel	75
2. Algemene opmerkingen	77
3. Benodigdheden	77
4. Voorbereidingen	77
4.1. Planning	77
4.2. Filtratiedprocedure stadswater	78
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	80
5. Staalnameprocedures	83
5.1. Algemene handelingen op de Run-off site	83
5.2. Staalname Run-off	83
5.3. Staalname atmosferische depositie	86
6. Afhandeling staalname	87
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	87
6.2. Transport van stalen naar UGent	88
Inhoudstabel	89
1. Doel	91
2. Algemene opmerkingen	91
3. Benodigdheden	91
4. Voorbereidingen	91
4.1. Planning	91
4.2. Filtratiedprocedure stadswater (ter productie van spoelwater)	92
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	94
5. Staalnameprocedures	95
5.1. Algemene handelingen op de staalnamelocatie	95
5.2. Staalname stadswater (WPC of SWK stalen)	97
3. Afhandeling staalname	106
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	106
6.2. Transport van de stalen naar UGent	106

1. Doel

Dit protocol beschrijft alle uit te voeren handelingen, van voorbereiding tot staalname, voor het bemonsteren van microplastics in Run-off waterstalen van autosnelwegen en de bijhorende atmosferische depositie langs autosnelwegen.

2. Algemene opmerkingen

- Alle materiaal dient voorbehouden te worden voor de staalname van microplastics.
- Het materiaal dient gestockeerd te worden in een aparte propere ruimte.

3. Benodigdheden

Foto's en benamingen van de verschillende benodigdheden/materialen zijn te vinden in in annex 1.

Standaardbenodigdheden staalname:

1	Aluminiumfolie: knip voldoende aluminiumfolie's op de goede grootte zodat deze bij een staalname snel kunnen vervangen worden indien nodig
2	Witte katoenen overall (in katoenen zak)
3	Olie regenvest (in katoenen zak)
4	Korte lederen handschoenen (in katoenen zak)
5	Metadata veldfiches (opgemaakt door UGent)
6	Fototoestel (gsm)
7	Tesa Tape
8	Spoelwater (gefiltreerd (0.8µm) stadswater of MQ-water afgenomen na 0.22µm-filter) voor het spoelen van het materiaal in het veld (zie sectie 4.2 voor de filtratieprocedure van het stadswater en 4.3 voor de benodigde volumes)
9	Ecover handzeep
10	Katoenen doekjes
11	Veiligheidsschoenen

De specifieke benodigdheden per matrix zijn opgelijst in sectie 5.2 en 5.3.

4. Voorbereidingen

4.1. Planning

- Staalnames worden uitgevoerd tijdens het "Nat weer" seizoen.
Een gestarte staalname gaat door tot 9,5L run-off (regen)water verzameld werd.
Dit wordt per staalnamepunt in totaal 3x achtereenvolgens uitgevoerd.
Voor 2 van de 4 geselecteerde staalnamepunten wordt de volledige staalname (3x 9,5L) nog eens herhaald. Tussen 2 volledige staalnameperiodes (= 3x 9,5L) wordt minstens 1 week tijd tussen gelaten.
- UGent op de hoogte brengen bij definitieve planning van staalnames om het binnenbrengen van de stalen af te spreken.

- Fiches voorzien om alle metadata van de staalnames te verzamelen.

4.2. Filtratieprocedure stadswater

- Draag hiervoor een overall (100% katoen), met geschikte onderkledij (niet synthetisch). Was de handen met ecover handzeep.
- Als alternatief voor het filteren van stadswater (op de hieronder beschreven manier) ter productie van spoelwater, kan ook Milli-Q water gebruikt worden dat een eindfiltratie kent over 0.22µm. Een dergelijke productie van spoelwater (MQ-water) volgt wel dezelfde principes als hieronder beschreven (bvb. voorspoelen van flessen).

- Benodigd materiaal:

1	Glazen filtratieopstelling voor filters met diameter 47mm voorzien van 1L-trechter en 4L-opvangkolf (nooit gebruikt voor andere toepassingen). Wikkel of sluit af in aluminiumfolie voor bewaring.
2	Filters Supor 800 : 0,8µm poriëndiameter, D47mm
3	Vacuümpomp met aansluitingen
4	10L Glazen flessen (gereinigd – zie sectie 4.3)
5	Aluminiumfolie

Filtratieprocedure:

1e gebruik filtratieopstelling (nieuwe opstelling):

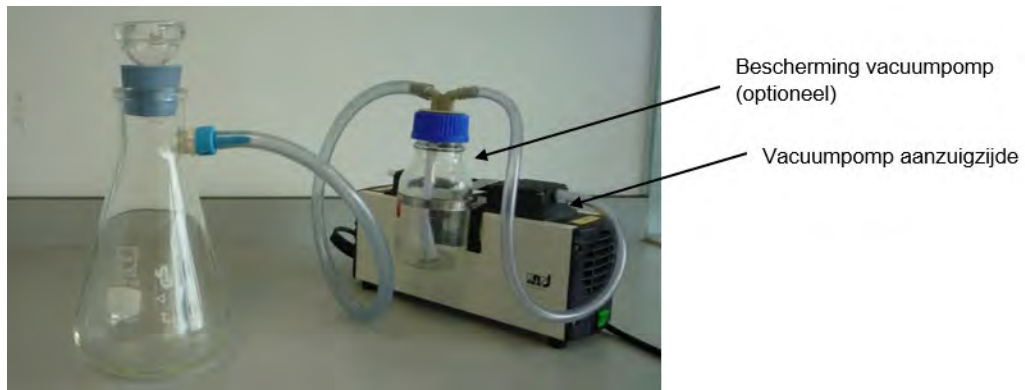
- Zowel de opvangfles, als de filterhouder en trechter worden gereinigd met detergent (Ecover).
- Naspoelen met (niet-gefiltreerd) stadswater.

Effectieve filtratie:

Opmerking bij afbeeldingen:

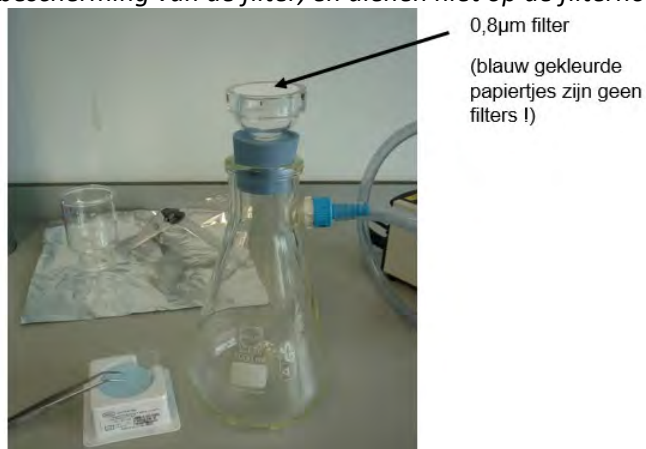
De aanbevolen glazen filtratieopstelling wijkt in beperkte mate af van de opstelling in de afbeeldingen (volume trechter, volume opvangfles, en montage van filterhouder op opvangfles gebeurt via een slijpstuk i.p.v. een rubberen stop).

- Monteer de glazen filtratie-eenheid en verbind met de vacuümpomp



- Leg een 0.8µm Supor filter op de filterhouder.

Opmerking : de (witte) filters liggen steeds tussen 2 blauwe papiertjes. Deze dienen als bescherming van de filter, en dienen niet op de filterhouder geplaatst te worden.



- Monteer de glazen trechter. Klem vast met bijhorende klem.



- Vul de trechter volledig met 1L stadswater en filtreer onder vacuum.
- Spoel de opvangfles met de 1L gefiltreerd stadswater d.m.v. omzwenken.
- Verwijder dit gefiltreerd stadswater (1L).
- Start het filtreren van het nodige volume stadswater (zie sectie 4.3). Voorzie steeds extra gefiltreerd stadswater. Een teveel aan spoelwater kan perfect later gebruikt worden.
- Vervang de filter indien de filtratie moeilijk begint te verlopen.
- Verzamel het water in voorgespoelde (zie sectie 4.3) glazen flessen (10L – zonder blauwe ring).
- Sluit de flessen af met aluminium folie tussen dop en hals (zie sectie 4.3).
- Demonteer de opstelling. Wikkel de glazen filterhouder en trechter in aluminium folie. Sluit de opvangkolf af met aluminiumfolie. Bewaar het materiaal in een kast of afgesloten doos in de voorbehouden ruimte.

4.3. Voorbereiding materiaal in labo

- Draag hiervoor een overall (100% katoen – voorbehouden voor de handelingen in het labo), met geschikte onderkledij (niet synthetisch – zie ook voorwaarden voor eigenlijke staalname).
- Handsen wassen met ecover handzeep.
- Voldoende spoelwater (gefiltreerd stadswater of MQ-water – zie sectie 4.2) voorzien voor het voorspoelen van het materiaal in het labo en op de staalnameplaats.
 - o Voorzie voldoende spoelwater voor het reinigen van het staalname materiaal in het labo.
 - o Overzicht benodigd volume spoelwater te gebruiken op de staalnameplaats, per staalnamehandeling:
 - Handsen wassen vóór staalname 0,5L per persoon, bij start, einde en elke flessenwissel, en per matrix
 - Naspoelen materiaal “*atmosferische depositie*” 1L
 - Voorbeeld:
Per Run-off staalname inclusief staalname atmosferische depositie wordt aangeraden om minstens 4L spoelwater te voorzien voor gebruik op de staalnameplaats, en dit voor de volledige staalnameperiode (4x 0,5L + 2x 0,5L voor wassen handen per persoon + 1L naspoelen materiaal).
Plaats steeds aluminiumfolie tussen dop en hals van de 10L fles.
- Bereid voldoende Blanco/Controle water (zie productie spoelwater in sectie 4.2), voor het uitvoeren van 2 Blanco's/Controles per ISCO monsternametoestel.
Voorzie voor de productie van de in totaal 6 Blanco/Controle stalen, 7 (10L-) flessen met telkens 11L spoelwater. Plaats steeds aluminiumfolie tussen dop en hals van de 10L fles. Per

toestel (3 in totaal) wordt één fles gebruikt voor de blanco productie vooraf en één fles voor de blanco achteraf. De 7^e fles (ROf 025 (Bl)) wordt gebruikt als controle/referentie van het spoelwater.

- Transportvoertuig (=camionet) : Reinigen voor start staalnameweek.
- Staalname materiaal reinigen
(zie benodigd materiaal per matrix in sectie 5.2 en 5.3): betreft hoofdzakelijk het reinigen van de inox trechters en bekers.
 - o Voor elke staalnameperiode: reinigen met detergent (Ecover) en niet-gefiltreerd stadswater.
 - o Naspoelen met spoelwater.
 - o Laten drogen/uitlekken in een voorbehouden lokaal of ruimte met beperkte toegang.
 - o Trechter in aluminiumfolie wikkelen tot gebruik.
 - o Beker afdekken met aluminiumfolie.
 - o Transport van het materiaal gebeurt in een afgesloten inox emmer.
- Alle reservetubing spoelen met voldoende (>10L) niet-gefiltreerd stadswater
 - o De tubing kan op een kraan aangesloten worden om te spoelen.
 - o Na het spoelen moeten de openingen van de tubing afgesloten worden met aluminiumfolie.
- Nieuwe staalname recipiënten (10L flessen) voorspoelen:
 - o Blauwe ring verwijderen (indien nog aanwezig op de 10L flessen).
 - o Spoelen met spoelwater.
 - o Nog aanwezige water gedurende 10sec “uitschudden”.
 - o Sluiten met aluminiumfolie tussen dop en flessenhals. Aluminium folie een beetje indrukken om beschadiging tegen te gaan.
- Opnieuw te gebruiken staalname recipiënten (10L flessen) reinigen en voorspoelen:
 - o Reinigen met detergent (Ecover) en niet-gefiltreerd stadswater.
 - o Spoelen met niet-gefiltreerd stadswater.
 - o Spoelen met spoelwater.
 - o Nog aanwezige water gedurende 10sec “uitschudden”.
 - o Sluiten met aluminiumfolie tussen dop en flessenhals. Aluminium folie een beetje indrukken om beschadiging tegen te gaan.



- Waterbestendige etiketten schrijven (zie staalnameoverzicht) en op recipiënten aanbrengen.
 - o De labelling voor de Run-off staalname wordt standaard op de volgende manier geschreven:

<i>UG – VMM – MP project</i>	
<i>JJJMMDD – locatie</i>	
<i><u>ROf</u> – Nr</i>	<i>+</i>
	<i>niets</i>
	<i>+</i>
	<i>(Bl) = Blanco staal</i>
	<i>+</i>
	<i>(G) = getuige staal</i>
	<i>+</i>
	<i>(D) = demo staal</i>

- 0 De labelling voor de staalname van de atmosferische depositie wordt op de volgende manier geschreven:

UG – VMM – MP project
JJJMMDD – locatie
ATM – Nr + niets

- 0 Als voorbeeld wordt hieronder weergegeven hoe de recipiënten voor de staalname in Deince, indien deze zou gestart worden in de week van 3 februari 2020, zouden worden gelabeld.

De datums zijn fictief.

UG – VMM – MP project 20200131 – Deinze <u>ROf</u> – 001 (BI)	UG – VMM – MP project 20200204 – Deinze <u>ROf</u> – 004
UG – VMM – MP project 20200205 – Deinze <u>ROf</u> – 005	UG – VMM – MP project 20200207 – Deinze <u>ROf</u> – 006
UG – VMM – MP project 20200207 – Deinze ATM – 001	

- Staalname kledij
 - o Overall en eventueel nodige leren handschoenen altijd in katoenen zak meenemen.
 - o Olie regenjas altijd in aparte katoenen zak meenemen.
 - o Eigen basiskledij controleren (niet synthetisch) vóór het vertrek en eventueel aanpassen.
- Materiaal checklist (standaardmateriaal en per matrix) controleren (zie secties 3, 5.2 en 5.3).

5. Staalnameprocedures

5.1. Algemene handelingen op de Run-off site

- Basiskledij controleren op synthetische samenstelling en indien mogelijk aanpassen.
- Vooraleer het materiaal wordt klaar gezet en vóór elke handeling die betrekking heeft tot de staalname, moeten de overall (bewaard in katoenen zak) en de voorziene veiligheidsschoenen worden aangetrokken.
- Handen wassen met ecover handzeep en spoelwater.
- Wanneer er contact mogelijk is met één van de diverse stalen moeten korte lederen handschoenen worden aangedaan
- Na de diverse staalnamehandelingen:
 - Dient de kledij (overall, olieregenvest, handschoenen) terug in de resp. katoenen zak worden opgeborgen.
 - Moet de metadata fiches, resp. file aangevuld worden
- Er dient per staalnameperiode minstens 1 foto genomen worden.
- Laat de doppen van de staalname recipiënten nooit open aan de lucht liggen. Wikkel deze in aluminiumfolie en bewaar ze in het transportvoertuig.
- Alle gevulde recipiënten moeten tot het einde van de staalnameperiode (en het transport naar GhEnToxLab-Ugent) bewaard worden in een donkere ruimte (en indien mogelijk gekoeld).

5.2. Staalname Run-off

Benodigd materiaal voor een volledige staalnameperiode per monsternametoestel op de Run-off site:

1	Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3)
2	Gereinigd ISCO monsternametoestel (zie verder in deze sectie)
3	Verschillende lengtes voorgespoelde (reserve)tubing (afgesloten met aluminiumfolie) om aan te sluiten op het monsternametoestel
4	10L glazen flessen (brede hals – 2 per staalnameperiode + 1 reserve), gereinigd en gespoeld (zie sectie 4.3)
5	Pluviometer/Hoogtesensor

Benodigd materiaal in het labo voor de stalen van één volledige staalnameperiode in het labo:

1	Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3)
2	10L glazen flessen (smalle hals – 3 per staalnameperiode + 1 reserve), gereinigd, gespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3)
3	1 inox trechter, diameter +/- 15-20cm
4	Glazen Beker (0,25L), gereinigd en gespoeld
5	3x 0,5L spoelwater (dit kan MQ water zijn)

Benodigd materiaal per monsternametoestel nodig in het labo voor de spoel- en blanco/controle programma's :

1	10L glazen fles (brede hals – 1 voor spoelprogramma), gereinigd, maar hoeft niet voorgespoeld te zijn (zie sectie 4.3)
---	--

2	10L glazen fles (brede hals – 1 voor blanco), gereinigd en voorgespoeld (zie sectie 4.3)
3	10L glazen flessen (smalle hals – 1 voor blanco), gereinigd, voorgespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3)
4	Aluminiumfolie
5	min. 11L niet gefiltreerd stadswater in 10L glazen fles (smalle hals - voorgespoeld)
6	min. 6L spoelwater (zie 4.2 – dit kan MQ-water zijn) in 10L glazen fles (smalle hals - voorgespoeld)
7	Blanco/controle water = 11L spoelwater (zie 4.2 – dit kan MQ-water zijn) in 10L glazen fles (smalle hals - voorgespoeld)

Let op:

- ***De 10L glazen flessen met brede hals worden gebruikt in het toestel voor de productie van het staal, resp. blanco's, en worden steeds opnieuw gebruikt. Let goed op waar het reinigen, voorspoelen en het dubbele naspoelen (na overbrengen – zie lager) van belang is. De 10L glazen flessen met smalle hals worden gebruikt voor het bewaren van de stalen, resp. het aanleveren van het spoelwater.***
Het in de tabel aantal apart vermelde flessen, zijn het aantal flessen nodig voor de staalname, resp. spoelen en productie blanco. Het aantal flessen nodig voor het aanleveren van het spoelwater is hierin niet verrekend.
- ***Controleer steeds de instellingen van het programma vooraleer te starten.***

Te volgen schema (uit te voeren per toestel):

Handeling	Locatie
Systeem spoelen (2 stappen) - in het labo	Labo
Productie van Run-off blanco - in het labo (zie staalnameoverzicht of dit dient uitgevoerd te worden)	Labo
Installatie van toestel (incl. opstelling atmosferische depositie – zie 5.3)	Staalnamesite
Staalnameperiode (productie van 3 opeenvolgende stalen van 9,5L)	Staalnamesite/Labo
Systeem spoelen (2 stappen)	Labo
Productie van Run-off blanco (zie staalnameoverzicht of dit dient uitgevoerd te worden)	Labo

Hieronder worden de afzonderlijke stappen besproken.

* Spoelprogramma (in het labo)

Beide spoelstappen worden zo snel mogelijk uitgevoerd na het einde van elke staalnameperiode (= 3 opeenvolgende stalen).

1e spoelstap:

1. Lege glazen 10L fles (brede hals) in ISCO toestel plaatsen en toestel sluiten.
2. 10L (niet gefiltreerd) stadswater in 1 keer (zonder substalen) bemonsteren.
 - *Gebruik hiervoor een volledig gevulde 10L fles (11L) niet gefiltreerd stadswater (beetje reserve om geen lucht aan te zuigen). Dek de flesopening af met aluminiumfolie.*
3. Fles ledigen (water mag verwijderd worden) en terug in ISCO toestel plaatsen. Toestel sluiten.

2e spoelstap:

1. 4L spoelwater in substalen van 500 mL bemonsteren met tussenperiodes van 2 min.
 - *Gebruik hiervoor een minstens half gevulde 10L fles (min. 6L) spoelwater (beetje reserve om geen lucht aan te zuigen). Dek de flesopening af met aluminiumfolie.*
2. Ledig de fles (water mag verwijderd worden).
3. Indien er geen blanco's worden geproduceerd sluit dan alle tubing-openingen af met aluminiumfolie en sluit het ISCO toestel.

* Productie van Run-off blanco (in het labo)

1. Gespoelde glazen 10L fles (brede hals) in ISCO toestel plaatsen en toestel sluiten.
2. 9,5L MQ-water a.d.h.v. 500 mL substalen bemonsteren met tussenperiodes van 2 min.
 - *Gebruik hiervoor een volledig gevulde 10L fles (11L) blanco/controle water (beetje reserve om geen lucht aan te zuigen). Dek de opening af met een aluminiumfolie.*
3. Giet dit geproduceerde blancostaal met behulp van een voorgespoelde inox trechter over naar een voorgespoelde 10L fles (smalle hals) en sluit de fles af met aluminiumfolie tussen hals en dop.
4. Spoel de fles 2 maal na met (exact) 250mL spoelwater. Gebruik hiervoor de voorgespoelde glazen beker. Voeg dit volume telkens bij het staal m.b.v. de inox trechter die terzelfdertijd gespoeld wordt met het spoelwater.
Het is belangrijk dat telkens exact 250mL spoelwater wordt gebruikt voor het naspoelen, om dit achteraf in rekening te kunnen brengen bij het berekenen van het origineel volume van het staal.
5. Label de fles (zie protocol en staalnameoverzicht voor de gegevens).
6. Sluit alle tubing-openingen af met aluminiumfolie en sluit vervolgens het ISCO toestel.

* Installatie van het staalname toestel op de Run-off site

1. Installeer het monsternametoestel zo dicht mogelijk bij het staalnamepunt. Gebruik een gepaste lengte aan tubing (zo kort mogelijk) zodat het bemonsterde water zo weinig mogelijk in contact komt met deze tubing. Deze tubing moet vooraf reeds gespoeld zijn met niet-gefiltreerd stadswater
2. Installeer de pluviometer.
3. Installeer de opstelling voor atmosferische depositie (zie sectie 5.3).
4. Plaats een gespoelde glazen 10L fles (brede hals) in het ISCO toestel en sluit het toestel. De dop wordt in aluminiumfolie gewikkeld en in het transportvoertuig bewaard.

* Staalnameperiode (3 opeenvolgende stalen van 9,5L)

1. Controleer de instellingen van het toestel:

Afhankelijk van de staalnamelocatie wordt de staalname geactiveerd door een sensor:

- o Hoogtesensor → Wanneer het waterniveau 5cm stijgt
- o Pluviometer → Wanneer > 2mm/u neerslag valt gedurende 15min

Waarna het bemonsteren start a.d.h.v. 500 mL substalen met tussenperiodes van 15 min.

De staalname gaat door tot 9,5L Run-off (regen)water verzameld wordt.

Per dag wordt maximaal 1 staal van (9,5L) verzameld.

2. Indien er met een hoogtesensor wordt gewerkt, wordt alsnog een pluviometer aan de logger gekoppeld om deze data te kunnen verzamelen. Check of de data wel degelijk goed worden opgeslagen.
3. Haal de fles met het verzamelde staal uit het toestel, en plaats onmiddellijk een andere gespoelde 10L fles (brede hals) in het toestel. Sluit het toestel.
4. Start opnieuw de staalname.
5. Sluit de volle fles met een nieuw stuk aluminiumfolie tussen flessenhals en dop, en transporteer het staal naar het labo. Berg de kledij terug op in de katoenen zak. Noteer het bemonsterd volume Run-off water op de metadatafiche, voor het overhevelen en dus voor het toevoegen van 0,5L spoelwater.
6. In het labo (draag ook hier de gepaste kledij en overall en was de handen vooraleer de handelingen te starten):

Giet het geproduceerde staal met behulp van een voorgespoelde inox trechter over in een gelabelde en gespoelde 10L fles (smalle hals).

Spoel de fles 2 maal na met (exact) 250mL spoelwater. Gebruik hiervoor de voorgespoelde glazen beker. Voeg dit volume telkens bij het staal m.b.v. de inox trechter die terzelfdertijd gespoeld wordt met het spoelwater.

Het is belangrijk dat telkens exact 250mL spoelwater wordt gebruikt voor het naspoelen, om dit achteraf in rekening te kunnen brengen bij het berekenen van het origineel volume van het staal.

7. De 10L fles (brede hals) wordt grondig gespoeld met spoelwater om opnieuw te gebruiken voor de volgende staalname (op dezelfde site).
8. Berg de kledij terug op in de katoenen zak.

Herhaal de stappen 1 t.e.m. 8 voor de 3 opeenvolgende stalen.

Bewaar de stalen tot het einde van de staalnameperiode en het transport naar de UGent in een donkere ruimte (en indien mogelijk gekoeld).

Vervolledig de metadatafiche en neem minstens 1 foto van de volledige opzet (monsternametoestel, pluviometer, opstelling atmosferische depositie), om de posities van alle opstellingen t.o.v. elkaar te demonsteren.

Noteer in annex 2 eventuele extra toestelinstellingen of handelingen die van belang kunnen zijn voor de run-off staalname. Bezorg deze annex aan GhEnToxLab zodat deze in het protocol kunnen verwerkt worden.

5.3. Staalname atmosferische depositie

Benodigd materiaal op de Run-off site:

1	Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3)
---	---

2	10L glazen flessen (smalle hals - 1 + 1 reserve), gereinigd, voorgespoeld en gelabeld (zie sectie 4.3)
3	1 inox trechter (D25cm), gereinigd en voorgespoeld. Transporteren in afgesloten inox emmer.
4	Tesa tape
5	Inox beker (500mL), gereinigd en voorgespoeld. Transporteren in afgesloten RVS emmer.
6	>1L spoelwater (dit kan MQ-water zijn – zie sectie 4.2)

Benodigd materiaal in het labo ter voorbereiding 10L staalnamefles:

1	Inox of glazen beker (500mL), gereinigd en voorgespoeld
2	200ml spoelwater (dit kan MQ-water zijn – zie sectie 4.2)
3	Aluminiumfolie

Vorbereiding in het labo:

1. Neem een gespoelde glazen 10L fles (smalle hals)
2. Giet $\pm$ 200mL spoelwater water in de fles. Sluit de fles met aluminium folie tussen hals en dop.

Effectieve staalname

1. Open de fles en plaats de gespoelde inox trechter op de fles.
Het volume spoelwater (200mL) dat reeds in de fles aanwezig is, zorgt er voor dat de fles niet droog komt te staan en de gecollecteerde microplastics beter worden vastgehouden in de fles.
2. De trechter wordt met Tesa tape aan de fles bevestigd om zijn positie te fixeren.
3. De opstelling wordt zo dicht als mogelijk bij het ISCO-staalnametoestel geplaatst, open aan de lucht/atmosfeer, maar wel op enige afstand van de weg (zodat er geen microplastics rechtstreeks vanop de weg in de trechter worden “gekatapulteerd”).
4. Neem een foto van de locatie van deze opstelling die ook de afstand weergeeft t.o.v. de weg.
5. De opstelling blijft staan gedurende de hele staalnameperiode (3 opeenvolgende stalen).
6. Controleer bij het wisselen van de 1^e naar de 2^e en van 2^e naar 3^e fles of de opstelling nog goed staat.
7. Pas bij het einde van de staalnameperiode (einde van 3^e en laatste Run-off staal) wordt ook de atmosferische depositie staalname beëindigd.
8. De trechter wordt uitvoerig afgespoeld met spoelwater zodat de laatste atmosferische depositie van op de trechter ook in de fles terecht komt.
9. De regen die tijdens de staalnameperiode is gevallen, zal (normaal gezien) reeds een groot deel van het atmosferische depositie staal van op de trechter naar de fles hebben gespoeld.
10. Vervolledig de metadatafiche.

6. Afhandeling staalname

6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches

- Indien mogelijk, de stalen koel (4-10°C) bewaren tot transport naar UGent.
- Invullen van de verzamelde metadata op de daarvoor voorziene online spreadsheet.

- o Deze online spreadsheet wordt door de UGent aangemaakt en gemodereerd.
- Alle metadata veldfiches (originele papieren versie) verzamelen bij een daarvoor aangewezen VMM medewerker.
- De beste foto's van de opstellingen opslaan in een daarvoor voorziene online dropbox map.
 - o De dropbox map wordt door een VMM medewerker aangemaakt en gemodereerd (conform met bestaande systemen).
 - o Foto's moeten nadien als volgt worden benoemd (gelijkaardig aan labelling):
 - JJJJMMDD_ROf-code_Locatie**
 - JJJJMMDD_ATM-code_Locatie**
 - Het centrum van de foto bevat steeds de plaats waar het staal werd genomen en omvat best een herkenbaar punt.

6.2. Transport van stalen naar UGent

- Op het einde van een staalnameperiode worden de stalen aan de UGent bezorgd.

Bijlage 4. Staalnameprocedure voor microplastics in door waterproductiecentra geleverd stadswater.

Inhoudstabel

Inhoudstabel	37
1. Doel	40
2. Algemene opmerkingen.....	40
3. Benodigdheden.....	40
4. Voorbereidingen	40
4.1. Planning	41
4.2. Filtratieprocedure stadswater	41
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	43
5. Staalnameprocedures	47
5.1. Algemene voorbereidingen in het veld	47
5.2. Staalname oppervlaktewater	48
5.3. Staalname sediment	49
5.4. Staalname biota	51
6. Afhandeling staalname	53
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	53
6.2. Transport van stalen naar UGent	53
Inhoudstabel	54
1. Doel	57
2. Algemene opmerkingen.....	57
3. Benodigdheden.....	57
4. Voorbereidingen	57
4.1. Planning	57
4.2. Filtratieprocedure stadswater	59
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	61
5. Staalnameprocedures	64
5.1. Algemene handelingen op de RWZI site	64
5.2. Staalname RWZI influent	64
5.3. Staalname RWZI effluent	66
	89

5.4. Staalname ingedikt slib	69
5.5. Staalname drijvende fractie in bezinkingsbekken	70
6. Afhandeling staalname	74
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	74
6.2. Transport van stalen naar UGent	74
Inhoudstabel	75
2. Algemene opmerkingen.....	77
3. Benodigdheden.....	77
4. Voorbereidingen	77
4.1. Planning	77
4.2. Filtratiedprocedure stadswater	78
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	80
5. Staalnameprocedures	83
5.1. Algemene handelingen op de Run-off site	83
5.2. Staalname Run-off	83
5.3. Staalname atmosferische depositie	86
6. Afhandeling staalname	87
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	87
6.2. Transport van stalen naar UGent	88
Inhoudstabel	89
1. Doel	91
2. Algemene opmerkingen.....	91
3. Benodigdheden.....	91
4.Vorbereidingen	91
4.1. Planning	91
4.2. Filtratiedprocedure stadswater (ter productie van spoelwater)	92
4.3. Voorbereiding materiaal in labo	94
5.Staalnameprocedures.....	95
5.1. Algemene handelingen op de staalnamelocatie	95
5.2. Staalname stadswater (WPC of SWK stalen)	97
3. Afhandeling staalname	106
6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches	106
6.2. Transport van de stalen naar UGent	106

1. Doel

Dit protocol beschrijft alle uit te voeren handelingen, van voorbereiding tot staalname, voor het bemonsteren van stadswater, welke geproduceerd en geleverd wordt door een waterproductiecentrum.

De staalname wordt uitgevoerd in een waterproductiecentrum (WPC) of in private locaties (huishoudens). De staalnameprocedure is in beide omstandigheden identiek.

2. Algemene opmerkingen

- Alle materiaal dient voorbehouden te worden voor de staalname van microplastics.
- Het materiaal dient gestockeerd te worden in een aparte propere ruimte.

3. Benodigdheden

Foto's en benamingen van de verschillende benodigdheden/materialen zijn te vinden in in annex 1.

Standaardbenodigdheden staalname:

1	Witte katoenen overall (in katoenen zak)
2	Ecover handzeep
3	Tesa Tape
4	Katoenen doekjes
5	Aluminiumfolie
6	Metadata veldfiches (opgemaakt door UGent)
7	Fototoestel (GSM)
8	Spoelwater (gefiltreerd (0.8µm) stadswater of MQ-water afgenomen na 0.22µm-filter) voor het spoelen van het materiaal (zie sectie 4.2 voor de filtratieprocedure van het stadswater en 4.3 voor de benodigde volumes)

De specifieke benodigdheden voor de staalname zelf zijn opgelijst in sectie 5.2.

4. Voorbereidingen

4.1. Planning

- Vraag vooraf volgende info op bij het waterproductiecentrum:
 - o Type kraan (laat een foto doorsturen),
 - o Diameter kraanaansluiting,
 - o Beschikbaarheid waterafvoer en afstand tot de afvoer vanaf de kraan/opstelling,
 - o Druk op de leiding,
 - o Toegankelijkheid staalnamepunt (plaats voor materiaal ?),
 - o Beschikbaarheid stopcontact in de nabije omgeving (is nodig voor vacuümpomp) om eventueel een gepaste verlengkabel te voorzien,
 - o Contactpersoon die de dag van de staalname aanwezig zal zijn.

In annex 2 staan reeds enkele staalnamepunten ter info.

- UGent op de hoogte brengen bij definitieve planning van staalnames om het binnenbrengen van de stalen af te spreken.
- Fiches voorzien om alle metadata van de staalname te verzamelen.

4.2. Filtratieprocedure stadswater (ter productie van spoelwater)

- Draag hiervoor een overall (100% katoen), met geschikte onderkledij (niet synthetisch). Was de handen met ecover handzeep.
- Als alternatief voor het filteren van stadswater (op de hieronder beschreven manier) ter productie van spoelwater, kan ook Milli-Q water gebruikt worden dat een eindfiltratie kent over 0.22µm. Een dergelijke productie van spoelwater (MQ-water) volgt wel dezelfde principes als hieronder beschreven (bvb. voorspoelen van flessen).
- Benodigd materiaal:

1	Glazen filtratieopstelling voor filters met diameter 47mm voorzien van 1L-trechter en 4L-opvangkolf (nooit gebruikt voor andere toepassingen). Wikkel of sluit af in aluminiumfolie voor bewaring.
2	Filters Supor 800: 0,8µm poriëndiameter, D47mm
3	Vacuümpomp met aansluitingen
4	10L Glazen flessen (gereinigd – zie sectie 4.3)
5	Aluminiumfolie

Filtratieprocedure:

1e gebruik filtratieopstelling (nieuwe opstelling):

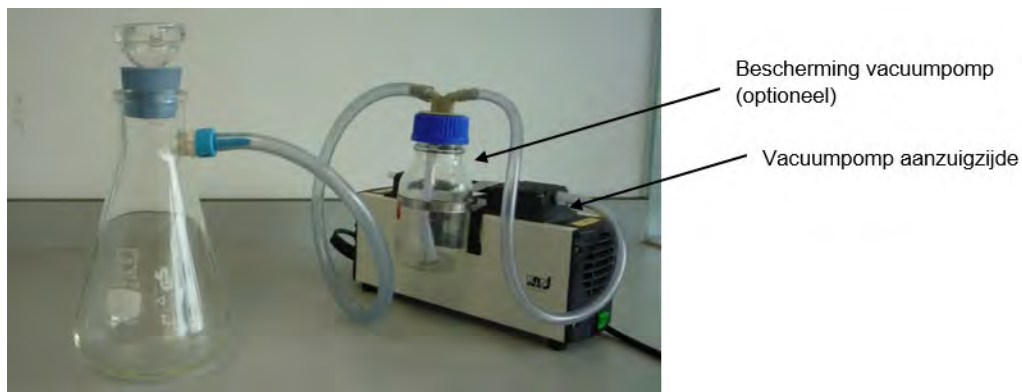
- Zowel de opvangfles, als de filterhouder en trechter worden gereinigd met detergent (Ecover).
- Naspoelen met (niet-gefiltreerd) stadswater.

Effectieve filtratie:

Opmerking bij afbeeldingen:

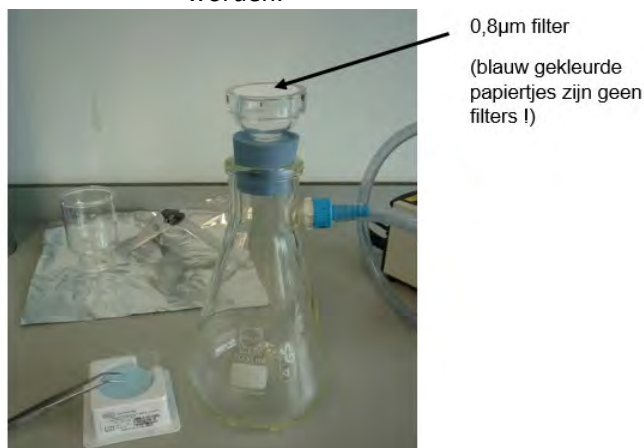
De aanbevolen glazen filtratieopstelling wijkt in beperkte mate af van de opstelling in de afbeeldingen (volume trechter, volume opvangfles, en montage van filterhouder op opvangfles gebeurt via een slijpstuk i.p.v. een rubberen stop).

- Monteer de glazen filtratie-eenheid en verbind met de vacuümpomp.



- Leg een 0.8µm Supor filter op de filterhouder.

Opmerking : de (witte) filters liggen steeds tussen 2 blauwe papertjes. Deze dienen als bescherming van de filter, en dienen niet op de filterhouder geplaatst te worden.



- Monteer de glazen trechter. Klem vast met bijhorende klem.



- Vul de trechter volledig met 1L stadswater en filtreer onder vacuüm.
- Spoel de opvangfles met de 1L gefiltreerd stadswater d.m.v. omzwenken.
- Verwijder dit gefiltreerd stadswater (1L).
- Start het filtreren van het nodige volume stadswater (zie sectie 4.3). Voorzie steeds extra gefiltreerd stadswater. Een teveel aan spoelwater kan perfect later gebruikt worden.
- Vervang de filter indien de filtratie moeilijk begint te verlopen.
- Verzamel het water in voorgespoelde (zie sectie 4.3) glazen flessen (10L – zonder blauwe ring).
- Sluit de flessen af met aluminium folie tussen dop en hals (zie sectie 4.3).

- Demonteer de opstelling. Wikkel de glazen filterhouder en trechter in aluminium folie. Sluit de opvangkolf af met aluminiumfolie. Bewaar het materiaal in een kast of afgesloten doos in de voorbehouden ruimte.

4.3. Voorbereiding materiaal in labo

- Draag hiervoor een overall (100% katoen – voorbehouden voor de handelingen in het labo), met geschikte onderkledij (niet synthetisch – zie ook voorwaarden voor eigenlijke staalname).
- Handen wassen met ecover handzeep.
- Voldoende spoelwater (gefiltreerd stadswater of MQ-water) voorzien voor het voorspoelen van het materiaal in het labo (zie sectie 4.2 voor filtratie stadswater indien geen MQ water (0.22µm) voorhanden is).
Op de staalnamelocatie dient geen materiaal meer gespoeld te worden met spoelwater. Ook de handen kunnen gespoeld worden met het op de locatie beschikbare, niet gefiltreerd stadswater.
 - o Voorzie voldoende spoelwater voor het reinigen van het staalname materiaal. Het gaat hier hoofdzakelijk om het spoelen van petrischaaltjes en eventueel de filterhouders indien deze tussen de staalnames niet bewaard werden in aluminiumfolie.
 - o Plaats steeds aluminiumfolie tussen dop en hals van de 10L fles.
- De blanco wordt gecombineerd met de staalname (onderste filterhouder). Er dient geen extra blanco/controle water voorzien te worden.
- Transportvoertuig.
Berg alle materiaal op (met uitzondering van de vacuümpomp met beschermfles), in afgesloten kartonnen dozen, of een aluminium transport kist.
- Staalname materiaal reinigen
(zie benodigd materiaal per matrix in sectie 5.2):
 - o Reinig de nodige petrischaaltjes (incl. bijhorende dekseltjes) en de pincetten met detergent (Ecover) en niet-gefiltreerd stadswater. Per staalnamepunt dienen 7 petrischaaltjes (incl. bijhorende dekseltjes) te worden voorzien.
Dit zijn de volgende 3 sets:
 - Set 1: 3 petrischaaltjes, te gebruiken tijdens de staalname
 - Set 2: 2 petrischaaltjes, voor het bewaren van de filters na staalname
 - Set 3: 2 petrischaaltjes, als reserve
 - o Naspoelen met spoelwater.
 - o Laten drogen in een voorbehouden lokaal of ruimte met beperkte toegang (petrischaaltjes en dekseltjes omgekeerd op absorberend papier plaatsen).
 - o Sluit elk schaalpje met een dekseltje.
 - o Wikkel de petrischaaltjes in aluminiumfolie volgens bovenstaand set-schema. Voorzie set 2 van een etiket (zie lager).
 - o Wikkel de pincet(ten) in aluminiumfolie.
 - o Berg alles op in een afgesloten kartonnen doosje.
- (Waterbestendig) Etiket schrijven (zie staalnameoverzicht voor codes) en op aluminiumfolie van set 2 klevens.
 - o De labelling voor de drinkwaterstaalname wordt standaard op de volgende manier geschreven (set van petrischaaltjes):

--

<i>UG – VMM – MP project</i>		
<i>JJJJMMDD – locatie</i>		
<u>WPC/SWK</u> – Nr	+	<i>niets</i>
Nr	+	<i>(Bl) = Blanco staal</i>
Nr	+	<i>(D) = Demo staal</i>

Op het etiket dient de locatie verder te worden gespecificeerd m.b.v. volgende codes:

WPC = waterproductiecentrum, indien staalname uitgevoerd wordt in een waterproductiecentrum,

SWK = stadswaterkraan, indien staalname uitgevoerd wordt aan een stadswaterkraan bij een particulier thuis.

De petrischaaltjes worden na de staalname ook nog afzonderlijk gelabeld, volgens hetzelfde principe (zie sectie 5.2, Effectieve staalname).

- o Als voorbeeld wordt hieronder weergegeven hoe set 2 voor de uitgevoerde demo staalname van 19 december 2019 in het waterproductiecentrum (WPC) van Kluizen, werd gelabeld:

<i>UG – VMM – MP project</i>		
<i>20191219 – Kluizen</i>		
<u>WPC</u> – 001 (D) + 002 (Bl) (D)		

- o Indien de staalname was uitgevoerd aan een stadswaterkraan (SWK) bij een particulier thuis, dan zouden de etiketten er als volgt hebben uitgezien:

<i>UG – VMM – MP project</i>		
<i>20191219 – Kluizen</i>		
<u>SWK</u> – 001 (D) + 002 (Bl) (D)		

- Staalname kledij
 - o Overall (altijd in katoenen zak meenemen).
 - o Eigen basiskledij controleren (niet synthetisch) vóór het vertrek en eventueel aanpassen.
- Materiaal checklist (standaardmateriaal en per matrix) controleren (zie secties 3 en 5.2).

5. Staalnameprocedures

5.1. Algemene handelingen op de staalnamelocatie

- Basiskledij controleren op synthetische samenstelling en indien mogelijk aanpassen.
- Vooraleer het materiaal wordt klaar gezet en vóór elke handeling die betrekking heeft tot de staalname, moet de overall (bewaard in katoenen zak) worden aangetrokken.
- Handen wassen met ecover handzeep.
- Na de diverse staalnamehandelingen:
 - o dient de overall terug in de resp. katoenen zak worden opgeborgen,
 - o moet de metadata file aangevuld worden,
 - o dienen ook de nodige foto's (staalnamelocatie, gemonteerde opstelling, filters) genomen worden,
 - o alle filterhouders in aluminiumfolie gewikkeld worden.

- Laat de filters nooit open aan de lucht liggen. Gebruik de 1^e set petrischaaltjes om de gespoelde filterplaat en filters tijdens de voorbereiding en de montage van de opstelling afgedekt te houden (zie sectie 5.2, Installatie filterhouders en voorspoelen).
- Leg eventuele losgemaakte onderdelen steeds op aluminiumfolie. Vermijd om de gemonteerde RVS/metalen verbindingstukken los te draaien. Indien dit toch dient te gebeuren, dient een nieuw stukje teflon tape rond de schroefdraad gedraaid te worden, er zorg voor dragend dat er geen teflon tape aan de binnenkant contact maakt met



Randen vrijhouden van Teflon tape

het te bemonsteren water.

- Bewaar de filters bij 4°C (elke set gewikkeld in aluminiumfolie). Indien de staalnames in een korte tijdspanne (< 1 maand) worden genomen kunnen alle filters verzameld worden en tesamen afgeleverd worden bij GhEnToxLab. Indien de staalnames gespreid worden over een langere periode (bv. tijd tussen 2 staalnames bedraagt meer dan 1 maand), worden de reeds beschikbare filters al naar de UGent gebracht om de staalverwerking te kunnen starten.

5.2. Staalname stadswater (WPC of SWK stalen)

Foto's en benamingen van de verschillende benodigdheden/materialen zijn te vinden in annex 1.

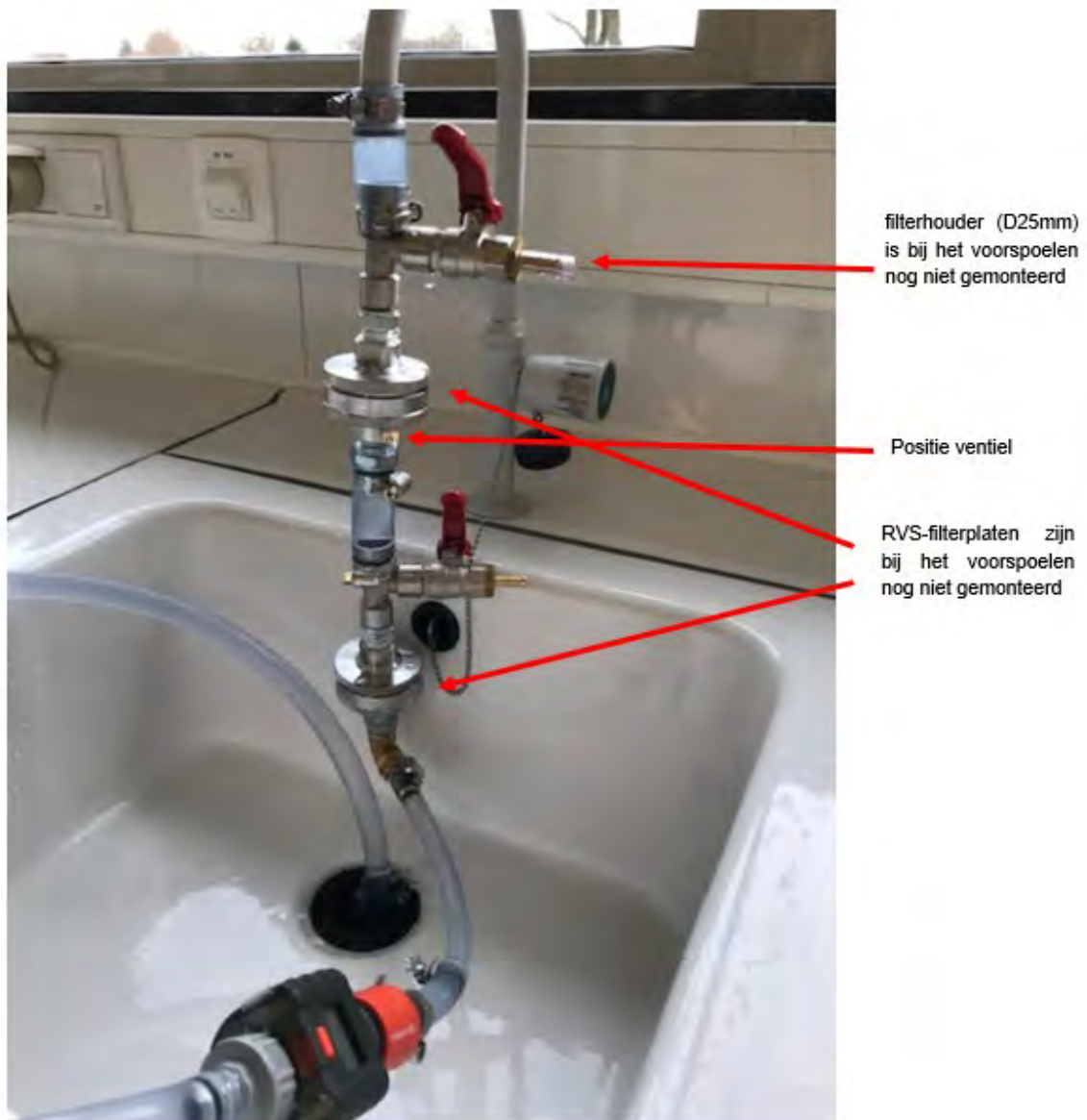
Benodigd materiaal per staalname:

1	Standaardmateriaal staalname (zie sectie 3)
2	2 RVS-filterhouders (voor filters met D47mm) – voorzien van kraan en aansluitingen (zie foto's in annex 1) Indien het de eerste staalname betreft, dienen de filterhouders gereinigd en gespoeld te worden volgens de standaardprocedure. Indien de filterhouders reeds gebruikt werden bij een vorige staalname, <u>en</u> indien ze bewaard werden omwikkeld in aluminiumfolie, dan kunnen de filterhouders onmiddellijk gebruikt worden voor de staalname.
3	1 RVS-filterhouder (voor filters met D25mm) Bij het eerste gebruik dient het filterhoudertje gereinigd en gespoeld te worden volgens de standaardprocedure. Indien bewaard in aluminiumfolie, dan kan het filterhoudertje onmiddellijk gebruikt worden voor de staalname.
4	1 Gardena watermeter om het watervolume en debiet te registreren
5	Cellulose nitrate membraanfilters, 8µm, D47mm (Whatman, ref. 10400112)
6	Cellulose nitrate membraanfilters, 5µm, D25mm (Whatman, ref. 7195-002)
7	7 Glazen petrischaaltjes met deksel, D55mm – gereinigd, voorgespoeld, en in aluminiumfolie verpakt (3 te gebruiken tijdens de staalname + 2 te gebruiken om de filters in te bewaren + 2 reserve)
8	Steeksleutels Zeker volgende maten voorzien: 18, 19, 20, 21, 22 en 23
9	Schroevendraaier, bij voorkeur een schroevendraaier type dopsleutel
10	RVS pincet
11	Schaar
12	Tubing cutter
13	Cuttermes
14	Teflon tape
15	Siliconen tubings met verschillende diameters voor montage filterhouders en afvoer bemonsterd water;
16	Slangklemmen, (8-16, 10-16, 12-22, 16-25, 20-32, 25-40)
17	Reserve slangpilaar-aansluitingen (verschillende diameters)
18	Vacuümpomp met een 1L opvangfles voorzien van een kap met een in- en uitstroom
19	Verlengkabel

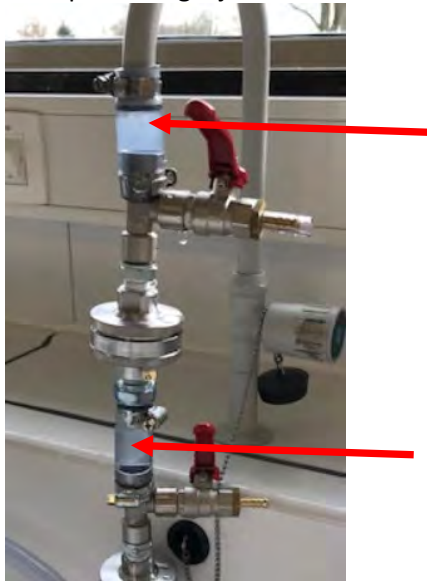
Installatie filterhouders en voorspoelen

Voor vragen tijdens het opzetten van de staalnameopstelling kan steeds contact opgenomen worden met Nancy De Saeys (09/264.37.74 of 0474/25.51.01) of Emmanuel Van Acker (09/264.38.94 of 0471/446961).

- Maak de staalnameplaats en dichte omgeving vrij en proper, en neem een foto.
- Controleer of er geen extra filter of schuimstraalbreker in de kraanaansluiting zit. Indien dit het geval is, dient deze verwijderd te worden.
- Was de handen met Ecover handzeep.
- Monteer de volledige opstelling aan de kraan zoals in de foto hieronder.



- o Hou de lengte van de tubings (kraan - filterhouder 1 / filterhouder 1 - filterhouder 2) zo beperkt mogelijk



De lengte van de tubing tussen de 2 filterhouders dient vergelijkbaar te zijn met de lengte van de tubing tussen de 1^e (bovenste) filterhouder en de kraan.

Draag er zorg voor dat de tubing geen losse stukjes materiaal bevat. Gebruik voor het snijden de tubingcutter of een cuttermes, om een gladde snijrand te bekomen.

- o Tijdens het spoelen dient het steunplaatje voor de filter nog niet geïnstalleerd te worden in de filterhouders.
- o Let op de richting van de filterhouders.
Het ventieltje dient onderaan te zitten.
Het ventieltje heeft voor deze staalname geen nut. Het dient wel lekvrij en dus gesloten te zijn.



Positie Ventiel: onderaan

- o De filterhouder voor de filters met D25mm dient nog niet gemonteerd te worden.
- o Beide kranen moeten dicht zijn (positie zoals op de foto hieronder).



- Monteer eerst de filterhouders en daarna de watermeter.



Aansluiting watermeter

Let op de juiste stroomrichting van

- Reset de watermeter. De handleiding is beschikbaar in annex 3.
Doe dit voor de displays “total 1” en “total 2” (om van het ene display naar het andere te gaan: 1x drukken op de toets, vervolgens in de betreffende display de toets 2 sec. ingedrukt houden om te resetten).
- Open de waterkraan zo ver mogelijk.
Controleer op lekken, en span de verbindingen aan waar nodig.
Spoel de opstelling gedurende minstens 5 min., en laat minstens 40L water (display “total 1” op de watermeter) door de filterhouders stromen. Beide (tijd en volume) voorwaarden dienen voldaan te zijn.
- Leg een stuk aluminiumfolie op een propere plaats in de nabijheid van de kraan.
Neem de 3 petrischaaltjes (incl. dekseltjes) van set 1. Plaats deze op de aluminiumfolie (dekseltjes nog steeds op de schaaltes).
- Spoel de 2 RVS-filterplaatjes langs beide kanten onder stromend water.
Laat gedurende 1 min. water stromen vooraleer het spoelen te starten.
Indien geen extra kraan in de nabije omgeving van de staalnamekraan beschikbaar is, kan ook het water na de uitloop gebruikt worden.
Berg de 2 filterplaatjes (tesamen) tijdelijk op in één van de petrischaaltjes. Leg eventueel een stukje aluminiumfolie tussen beide plaatjes om ze terug makkelijker van elkaar te krijgen. Sluit het schaalte af met het bijhorend dekseltje.
- Neem een 8µm cellulose nitraat membraanfilter (D47mm) en spoel deze ook af onder stromend water. Berg deze filter tijdelijk op in een 2^e petrischaaltje. Sluit af met het bijhorend dekseltje. Herhaal dit voor een 2^e filter, maar gebruik voor deze filter het 3^e petrischaaltje.

Opmerking : de (witte) filters liggen steeds tussen 2 blauwe papiertjes. Deze dienen als bescherming van de filter, en dienen niet in de petrischaaltjes of filterhouders geplaatst te worden.

- Wanneer voldoende lang (5min) en voldoende water (40L) door de opstelling is gestroomd, mag de kraan dicht gedraaid worden. Koppel de opstelling NIET af van de waterkraan. Koppel de watermeter af om het demonteren en monteren van de filterhouders voor de effectieve staalname makkelijker te maken (zie hieronder).

Effectieve staalname

- Vervolledig de opstelling:



- Draai de bovenste filterhouder (= staal) open.
Leg m.b.v. de RVS-pincet één van de gespoelde RVS-filterplaatjes op het onderste gedeelte van de filterhouder.
Leg vervolgens m.b.v. de RVS-pincet één van de gespoelde 8µm membraanfilters op het plaatje.

Indien de filter beschadigd wordt of op een niet gereinigd oppervlak valt tijdens deze handelingen, dan moet een nieuwe, onder stromend water gespoelde filter gebruikt worden.



- Draai het filterhuis stevig toe. Zorg dat enkel de ring draait en dat de filter en de 2 grote delen van het filterhuis niet meedraaien, om de filter niet te beschadigen. Draai vervolgens de onderste filterhouder (= blanco) open.
Leg het andere gespoelde RVS-filterplaatje op het onderste gedeelte van de filterhouder, gevolgd door de 2^e gespoelde 8µm membraanfilter.
Draai het filterhuis stevig toe. Zorg dat enkel de ring draait en dat de filter en de 2 grote delen van het filterhuis niet meedraaien, om de filter niet te beschadigen.
- Monteer de watermeter op de uitloop van de 2^e filterhouder.



Aansluiting watermeter

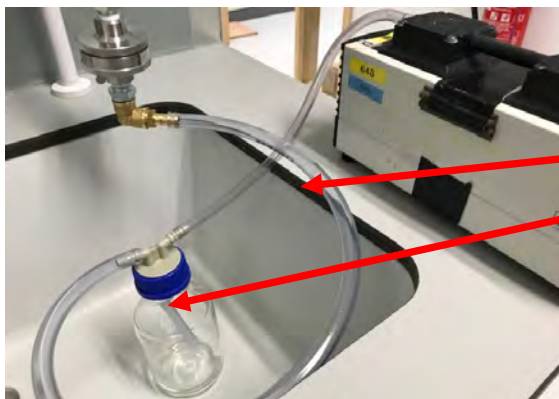
Let op de juiste stroomrichting
van de Gardena watermeter

- Reset de watermeter. De handleiding is beschikbaar in annex 3.
Doe dit voor de displays “total 1” en “total 2” (om van het ene display naar het andere te gaan: 1x drukken op de toets, vervolgens in de betreffende display de toets 2 sec. ingedrukt houden om te resetten).
- Open de kraan voorzichtig, maar zo ver mogelijk. Check het debiet op de watermeter (display 4 “liter per min.”).
Controleer op lekken, en span de verbindingen aan waar nodig.
Controleer het debiet regelmatig. Het gemiddelde debiet gedurende de eerste 2 min moet worden genoteerd op de staalnamefiche.
- Bemonster minstens 300L water, en minstens gedurende 1 uur (check display “total 1” op de watermeter). Aan beide voorwaarden dient voldaan te zijn. Indien na 1 uur nog geen 300L water over de filters is gestroomd, dient de staalname verder gezet te worden tot 300L water bemonsterd werd.
Check regelmatig het debiet (display 4 “liter per min.”). Indien tijdens de staalname de waterkraan meer of minder geopend wordt, dan moet het debiet opnieuw tijdens de eerste 2 min. opgevolgd en het gemiddelde genoteerd worden. Noteer het gemiddelde van het debiet halverwege de staalname (tussen 29 en 31 min.). Herhaal dit op het einde gedurende de laatste 2 min.
Indien het debiet tijdens de staalname onder de 2L/min daalt, moet een nieuwe filter geïnstalleerd worden in de filterhuizen voor zowel het eigenlijke staal als voor de blanco (zie opmerking/werkwijze op het einde van deze paragraaf).

- Monteer ondertussen de kleine (D25mm) RVS filterhouder, nu met een 5µm cellulose nitraat filter, op de uitlaat van de bovenste kraan. De 5µm filter dient niet vooraf gespoeld te worden.



- Neem een foto van de volledige opstelling
- Wanneer aan de voorwaarden voldaan is (min. 1uur en min. 300L water), wordt de kraan dicht gedraaid. De opstelling blijft gemonteerd aan de kraan. Noteer het bemonsterd volume water (display "total 1") en de staalnametijd op de staalnamefiche.
- Ontkoppel de watermeter van de opstelling en koppel de vacuümpomp aan. Plaats deze (en de fles) iets lager dan de opstelling, om het leeg pompen van de opstelling te vergemakkelijken.



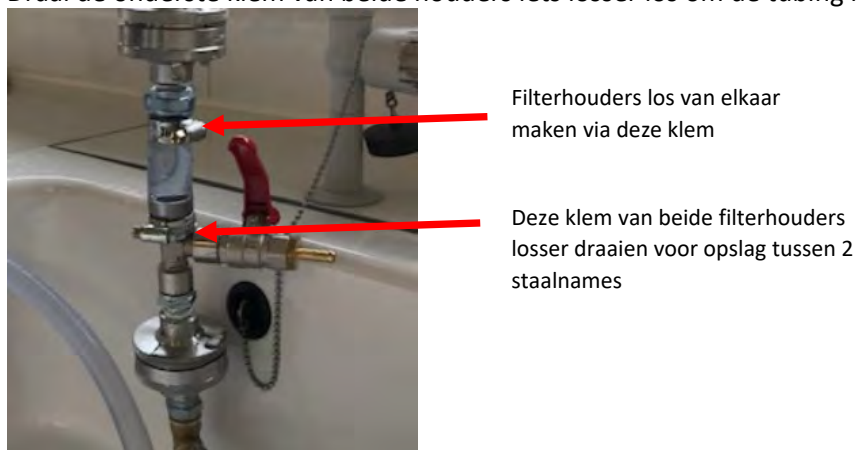
Water instroom in
opvangfles

- Open langzaam de bovenste kraan (voorzien van de kleine filterhouder met een 5µm membraanfilter).
- Schakel de vacuümpomp in. Pomp zoveel mogelijk water uit het systeem.
- Wanneer er geen water meer uit het systeem komt, wordt de bovenste kraan gesloten, de vacuümpomp uitgezet (niet afgekoppeld) en de kleine filterhouder vervolgens op de onderste kraan geplaatst. Open langzaam de kraan, schakel de vacuümpomp terug in, en pomp het resterende water uit het systeem. Schakel vervolgens de vacuümpomp uit. Wacht een 3-tal minuten vooraleer de onderste kraan te sluiten, om zo het opgebouwde vacuüm te laten verdwijnen. Sluit vervolgens de kraan en ontkoppel deze van het systeem.
- Plaats de gebruikte petrischaaltjes opzij.
- Neem de 2^e set met petrischaaltjes en plaats ze, nog steeds voorzien van dekseltjes, op de aluminiumfolie.
- Open voorzichtig de onderste filterhouder (blanco).
Zorg dat enkel de ring draait en dat de filter en de 2 grote delen van het filterhuis niet meedraaien, om de filter niet te beschadigen.
- Neem m.b.v. de RVS-pincet de filter uit de houder en leg deze in het respectievelijke petrischaaltje (bovenkant filter langs boven houden). Dek onmiddellijk af met het dekseltje.
- Herhaal dit voor de bovenste filterhouder (staal).

- Neem één foto van beide filters (beide filters op één foto). Open hiervoor gedurende korte tijd de petrischaaltjes.
- Kleef de schaaltes dicht met Tesa Tape. Zorg er voor dat de petrischaaltjes niet ondersteboven gedraaid worden, om verlies van microplastics te vermijden.
Breng de code, de datum, de staalnameplaats en het bemonsterd volume aan op het petrischaaltje m.b.v. Tesa Tape. Doe dit zowel op het schaalte als op het dekseltje.
Wikkel beide petrischaaltjes in (het oorspronkelijke) aluminiumfolie (met etiket, of voorzie een nieuw etiket).
Maak duidelijk wat de bovenkant van de set petrischaaltjes is.



- Vul de staalnamefiche aan met de volgende gegevens:
 - o locatie incl. specificatie (WPC/SWK),
 - o code staal en blanco,
 - o staalnamedatum,
 - o start- en eindtijd,
 - o bemonsterd volume (in L),
 - o gemiddeld debiet (in L/min, over 2 min. periodes) bij resp. de start, het midden en het einde van de staalname (en dit voor alle filtervervangingen),
 - o positie van de kraan (bv. volledig open, $\frac{3}{4}$ open) gedurende de verschillende periodes van de staalname,
 - o druk (bar, verkregen als info),
 - o uitvoerder(s),
 - o opmerkingen (o.a. aantal vervangen filters voor resp. staal en blanco).
- Bewaar de filters bij 4°C tot deze naar de UGent kunnen gebracht worden.
- Maak de opstelling los van de kraan.
Maak de 2 filterhouders los van elkaar door de bovenste klem van de tubing los te maken.
Draai de onderste klem van beide houders iets losser om de tubing minder te vervormen.



Draai de 2 filterhouders terug dicht en wikkel ze in aluminiumfolie. Op deze manier zijn deze onmiddellijk te gebruiken voor de volgende staalname.

- Haal het 5µm filttertje uit de kleine filterhouder. Dit filttertje mag verwijderd worden. Wikkel het filterhoudertje in aluminiumfolie.
- Maak de opvangfles leeg.

Opmerking:

- Vervangen filters tijdens staalname:
Indien het debiet onder de 2L/min daalt, moeten nieuwe filters geïnstalleerd worden. Ga als volgt te werk:
 - o Draai de kraan dicht.
 - o Noteer alle gegevens vooraleer de filters te vervangen.
 - o Pomp m.b.v. de vacuümpomp het water uit het systeem (zoals hierboven in detail uitgelegd).
 - o Vervang de beide filters door nieuwe 8µm filters, welke werden voorgespoeld onder stromend water.
 - o Ga verder met de staalname tot de voorwaarden voldaan zijn (totaal volume is minstens 300L en totale staalnametijd is minstens 1u).
 - o Noteer op het einde van de staalname opnieuw de gegevens.
 - o De 2^e filters mogen samengevoegd worden in de respectievelijke petrischaaltjes met de 1^e filters.
 - o Indien het debiet opnieuw te laag zou worden (< 2L/min), moeten de filters terug vervangen worden.

3. Afhandeling staalname

6.1. Verwerking van verzamelde metadata in veldfiches

- De stalen koel (4°C, elke set gewikkeld in aluminiumfolie) bewaren tot transport naar UGent. Indien de staalnames in een korte tijdsperiode (< 1 maand) worden genomen kunnen alle filters verzameld worden en tesamen afgeleverd worden bij GhEnToxLab. Indien de staalnames gespreid worden over een langere periode (bv. tijd tussen 2 staalnames bedraagt meer dan 1 maand), worden de reeds beschikbare filters best al naar de UGent gebracht om de staalverwerking te kunnen starten.
- Invullen van de verzamelde metadata op de daarvoor voorziene online spreadsheet.
 - Deze online spreadsheet wordt door de UGent aangemaakt en gemodereerd.
- Alle metadata veldfiches (originele papieren versie) verzamelen bij een daarvoor aangewezen VMM medewerker.
- De foto's van de staalnamelocatie, opstelling en de filters opslaan in een daarvoor voorziene online dropbox map.
 - De dropbox map wordt door een VMM medewerker aangemaakt en gemodereerd (conform met bestaande systemen).
 - Foto's moeten nadien als volgt worden benoemd (gelijkaardig aan labelling):
Voor de locatie:
JJJJMMDD_WPC/SWK_LOCATIE_DW
Voor de opstelling:
JJJJMMDD_WPC/SWK_LOCATIE_DW_OPSTELLING
Voor de filters:
JJJJMMDD_WPC/SWK_LOCATIE_DW_FILTERS

6.2. Transport van de stalen naar UGent

Op het einde van een staalnameperiode worden de stalen aan de UGent bezorgd.