

WEPAL/QUASIMEME organiseert ringtesten voor analyses in het terrestrische, aquatische en/of mariene milieu

# Natte ringtestmonsters van Wageningen Marine Research zijn jarenlang houdbaar

Wageningen Marine Research is niet alleen regelmatig deelnemer aan ringtesten, maar zorgt vanuit hun mariene expertise ook voor speciale ringtestmaterialen. Deze materialen bestaan uit vlees van vissen, schelp- en schaaldieren, die via nauwgezette protocollen tot homogene natte ringtestmonsters worden verwerkt. Dankzij sterilisatie zijn deze jarenlang houdbaar. In deze biota-monsters kunnen tal van milieuparameters worden geanalyseerd, van metalen en PAK's tot PFAS-verbindingen en microplastics.



**Marjolein de Hart**, eerste analist PAK's bij het chemielab van Wageningen Marine Research, maakt voor het steriliseren van 270 natte mariene biota-monsters voor ringtesten gebruik van de door Salm en Kipp geleverde Tuttnauer autoclaaf.

“Ja, het zou kunnen, maar de kans is wel heel erg klein!”, antwoordt Andrea Sneekes lachend op de vraag of de haring, die ik na het interview bij de viswinkel om de hoek bij Wageningen Marine Research wil scoren,

ook in gehomogeniseerde vorm over 270 monsterpotjes voor ringtesten verdeeld had kunnen zijn. “Als producent van ringtestmaterialen voor milieu-analyses in mariene biota betrekken we een deel van de monsters, waaronder haring, van commerciële partijen”, aldus de Wageningen Marine Research-projectleider. Zij is ook scientific projectadvisor bij WEPAL/QUASIMEME, de bij Wageningen University & Research (WUR) ondergebrachte faciliteit voor het organiseren (en alles daaromheen) van ringtesten voor analyses in het terrestrische, aquatische en/of mariene milieu.

“Wat de haringen in het meest recente geproduceerde testmateriaal betreft; die kan je niet bij de haringkar tegenkomen. Deze komen namelijk uit het Baltisch gebied en worden niet op de Nederlandse markt verkocht!”

#### Breed palet

Naast de mariene biota van Wageningen Marine Research ontvangt WEPAL/QUASIMEME monsters van diverse andere laboratoria, zodat het hele pallet aan benodigde monsters voor ringtesten voor analyses in het terrestrische, aquatische en/of mariene milieu is afgedekt. Denk daarbij aan zeewater-, plant- en gewas-, zoeten zoutwatersediment-, mest- en biomassamonsters. Op basis hiervan zijn er negen wereldwijd geaccrediteerde ringtestprogramma's, die ieder verschillende ringtesten bieden. Zo zijn er binnen het biota-programma ringtesten voor onder meer metalen, organochloorverbindingen, PAK's, organotinverbindingen, gebromeerde vlamvertragers, PFAS, TTX en microplastics. Afhankelijk van de ringtest zijn verschillende biota-monsters geschikt. Metalen



Na sterilisatie vindt op een selectie van tien potjes uit de batch van 270 een homoginiteitstest plaats.

en organochloorverbindingen kunnen in vrijwel alle vis-, schelp- en schaaldier weefsels gemeten worden, PAK's alleen in schelp- en schaaldieren en het neurotoxine TTX alleen in schelpdieren.

Voor elk van de ringtesten, bijvoorbeeld metalen in biota, zijn er één tot vier rondes per jaar. Laboratoria van over de hele wereld kunnen zich hiervoor inschrijven. Dat doen ze veelal vanuit een verplichting in verband met aanvraag dan wel behoud van 17025-accreditatie, die door menig opdrachtgever wordt vereist. Ze krijgen dan testmateriaal toegestuurd vanuit Wageningen en hebben drie-vier maanden de tijd om de betreffende analyses binnen hun reguliere stroom van praktijkmonsters uit te voeren en de analyseresultaten in te sturen. Die worden vergeleken met de resultaten van de andere deelnemers, waarna aan de hand van de z-score (een maat voor de afwijking van het gemiddelde) feedback wordt gegeven. Valt die score tussen -2 en +2 dan is het prima; valt die daarbuiten dan is er werk aan de winkel.

#### Secuur werk

De kwaliteit van de ringtesten hangt sterk samen met de kwaliteit van de ringtestmonsters. Om die te garanderen wordt bij Wageningen Marine Research elke keer een nauwgezette batchgewijze procedure doorlopen voor het maken van deze monsters. Marjolein de Hart, eerste analist PAK's bij het chemielab, is hiervoor verantwoordelijk. Zij licht de verschillende stappen toe. “Vanuit WEPAL/QUASIMEME wordt ieder jaar een plan gemaakt welke typen monsters aan het assortiment moeten

**Valt de score tussen -2 en +2 dan is het prima; valt die daarbuiten dan is er werk aan de winkel.**



Het chemisch lab is gespecialiseerd in de analyse van organische componenten in biota. De eindanalyse is veelal GC/MS-MS. →



worden toegevoegd. De ene keer kunnen dat mosselen zijn, een andere keer een vette vis als haring, of juist een minder vette vis. De eerste stap na het binnenkomen van de bestelde biota is, afhankelijk van het monster en het gewenste ringtestmonster, het fileren van de vis of het pellen van de schelp- en schaaldieren. Indien nodig spiken we het mengsel met contaminanten. We weten bijvoorbeeld dat mosselen die wij gebruiken altijd wel voldoende metalen bevatten, maar dat de gehalten organische contaminanten te laag zijn voor een ringtest. Die voegen we dan toe, zodat hetzelfde monster gebruikt kan worden in een ringtest voor metalen en voor organische contaminanten. Hierna wordt het monster langdurig en intensief gehomogeniseerd. Zo intensief, dat waterkoeling van de homogenisator noodzakelijk is. Dit garandeert dat het een homogene massa is; in alle potjes moet precies hetzelfde zitten. Na homogenisatie van het monster worden ongeveer 270 potjes met een doseerapparaat afgevuld.”

#### Allemaal in de autoclaaf

Marjolein plaatst vervolgens de hermetisch afgesloten potjes met monster –er mag geen vervuiling of water inkomen– in de autoclaaf, waar ze gedurende drie kwartier bij 122 °C worden gesteriliseerd. Na afkoelen vindt op tien potjes uit de batch, die vóór de sterilisatie zijn geselecteerd, een homogeniteitstest plaats. “We meten in duplo bepaalde componenten die ook in de ringtesten worden gevraagd. Dat gebeurt deels in ons eigen lab, deels door derden. Die analysewaarden moeten dan voor alle tien potjes in een zeer nauwe range vallen, anders zijn

**Andrea Sneekes** is naast haar functie als projectleider ook scientific projectadvisor bij WEPAL/QUASIMEME, de bij Wageningen University & Research (WUR) ondergebrachtte faciliteit voor het organiseren van ringtesten voor analyses in het terrestrische, aquatische en/of mariene milieu.



ze niet geschikt om rond te sturen voor een ringtest. Als extra test worden deze tien potjes ook voor en na sterilisatie gewogen, de massa mag niet toe- of afnemen. De batch van dan 260 potjes wordt daarna naar Wageningen gestuurd, waar ze worden toegevoegd aan de voorraad. Van daaruit worden er bij elke ringtestronde twee monsters naar de labs verstuurd. Dat zijn vaak verschil-

## DE DYNAMIEK ACHTER RINGTESTEN

Ringtesten, ook die in biota, zijn een weerspiegeling van de ontwikkelingen op het gebied van milieu-analyse. Wanneer een bepaalde (klasse van) verbinding(en) in de belangstelling komt te staan, zie je die op een zeker moment terug in het ringtestpallet. “Om goed in te spelen op de actualiteit en op wat er leeft bij de deelnemende laboratoria bevragen we ze om de zoveel tijd in een enquête. Ook luisteren we wat dat betreft goed naar onze wetenschappelijke adviesraad, die bestaat uit onderzoekers en beleidsmakers die midden in de praktijk staan”, vertelt Andrea Sneekes. Relatief nieuwe aandachtsgebieden, die inmiddels een plek hebben gekregen in het aanbod van ringtesten, zijn PFAS-verbindingen en microplastics. Dat is een vrij geleidelijk proces. “De analyse van microplastics verschuift op een zeker moment van fundamenteel naar toegepast onderzoek. In dat stadium komen wij in actie. Labs willen de methode standaardiseren; er moet beleid op kunnen worden gemaakt. Daar helpen ringtestmonsters bij. Maar in het begin zie je dat ieder lab op zijn eigen manier de plastics meet. We starten dan zogenaamde development exercises op, waarbij we met de labs om de tafel gaan zitten en informatie uitwisselen: welke groottes gaan we meten, in welke monsters? Dan beginnen we met een eenvoudig monster als een tabletje met plastics dat je

kan oplossen. We bespreken de resultaten, proberen consensus te vinden, te achterhalen waarom verschillende methodes tot verschillende resultaten leiden. We bouwen dat geleidelijk op tot moeilijkere monsters en geven daarbij labs de tijd om methodes op te zetten en te verbeteren. Uiteindelijk komen we dan tot de ringtest.”

Het is overigens niet zo dat alle labs die deelnemen aan een ringtest dezelfde methode moeten hanteren. “Sowieso ontwikkelen methodes zich continu door andere eisen, gevoeliger en specifiekere apparatuur. Bij het insturen van de analyseresultaten kan je aangeven welke methode je gebruikt. Als blijkt dat er tussen de labs een grote spreiding is, dan kunnen we op basis van de gebruikte methodes trends bekijken: wijken alle labs met een bepaalde methode af, of kan het liggen aan de opwerkmethode die ze gebruiken? Als daar niets uitkomt, dan organiseren we workshops voor de labs, discussiëren we bijvoorbeeld over de gebruikte methodes of welke monsters we nu eigenlijk willen hebben. Laboratoria van over de hele wereld meten in verschillende biota. Misschien is er behoefte aan een nog vettere vis dan een haring, of alleen de levers van de haringen. Dat laatste is dan voor Marjolein wel een stuk bewerklijker!”



Bij organische contaminantenanalyse in mariene biota is veel tijd gemoeid met de monsteropwerking.

lende matrices; je kunt ze dan ook niet met elkaar vergelijken. Deelnemers worden geïnformeerd over het soort monster, maar weten niet welke gehalten het monster bevat." De grote batchgrootte hangt samen met de wens om zoveel als mogelijk één monster te kunnen gebruiken voor verschillende studies. Door ze te steriliseren zijn ze bovendien meerdere jaren houdbaar. Dit maakt dat er vanuit de voorraad een keuze kan worden gemaakt ten aanzien van de niveaus van contaminanten en matrices, en optimaal kan worden ingespeeld op actuele ontwikkelingen op milieu-analysegebied.

### Heel houden

Het tegelijkertijd 270 potjes kunnen steriliseren bleek best wel een uitdagende eis toen Marjolein op zoek moest naar een nieuwe autoclaaf. "Dat is echt een must; als je de potjes in verschillende runs zou steriliseren breng je mogelijk extra variatie in, en dat wil je niet. We hebben gekozen voor een Tutt-nauer autoclaaf van Salm en Kipp. Die bleek namelijk ook goed te kunnen dealen met het afkoelen van de afgesloten potjes. Voor dit project moeten de potjes hermetisch gesloten worden geautoclaveerd. Er mag niets uit en zeker niets in (water bijvoorbeeld) want dat kan de gehalten in het monster beïnvloeden en daarmee verschillen tussen de potjes creëren. Maar, als je de gesloten potjes niet zorgvuldig afkoelt na het sterilisatieproces kunnen ze knappen. Door tijdens het koelen

de druk hoog te houden en langzaam naar normaalwaarden te brengen blijven de potjes intact. Dat gaat met dit apparaat uitstekend."

### Potjes retour

Het grappige is dat Wageningen Marine Research als deelnemer aan verschillende ringtesten sommige van die potjes weer retour krijgt. "We hebben dan natuurlijk geen idee of dat een nieuw monster is, of eentje die al

## Voor organische contaminantenanalyse in biota zijn we zo twee tot drie weken kwijt.

jaren in de voorraad zit. Net als alle andere deelnemers aan een ringtest behandelen we deze monsters hetzelfde als alle andere monsters die we analyseren voor onderzoek voor opdrachtgevers zoals Rijkswaterstaat, waterschappen en het ministerie van LNV", vertelt Andrea.

Het chemisch lab, dat drie projectleiders en vijf analisten telt, is gespecialiseerd in de analyse van organische componenten in biota. Iedere analist heeft daarbinnen weer zijn of haar eigen specialisatie, bijvoorbeeld PFAS, BDE's, organotin of PCB's & OCP's. De expertise van Marjolein ligt op het gebied van PAK's. Daarin is zij eerste analist, wat betekent dat je verantwoordelijk bent voor de

gehele analyse inclusief de kwaliteitsborging. Het specialisme op stofgroep is gekoppeld aan een bepaalde opwerkings- en analyse-techniek. De eindanalyse is veelal GC/MS-MS, waarbij er nog wat onderlinge variatie zit in de gebruikte ionisatiebron. Veel werk is er gemoeid met de opwerking. "Voor organische contaminantenanalyse in biota zijn we zo twee tot drie weken kwijt. Biota is een complexe matrix, die bestaat uit allerhande vetten en eiwitten. Je wilt heel laag kunnen meten, dus moet het extract zo schoon mogelijk zijn. Je moet de matrix dus heel goed van de contaminanten scheiden, maar dat moet dan met relatief milde methoden omdat je geen contaminanten mag verliezen. In de finesses van de uitvoering van zo'n monster voorbereiding komt onze expertise echt tot zijn recht. Dat zien we ook terug in onze resultaten bij de ringonderzoeken!", aldus Marjolein. ||

### INFORMATIE

#### Salm en Kipp

[www.salmenkipp.nl](http://www.salmenkipp.nl)

#### Wageningen Marine Research

[www.wur.nl/nl/onderzoek-resultaten/onderzoeksinstituten/marine-research](http://www.wur.nl/nl/onderzoek-resultaten/onderzoeksinstituten/marine-research)

#### WEPAL/QUASIMEME

[www.wepal.nl](http://www.wepal.nl)