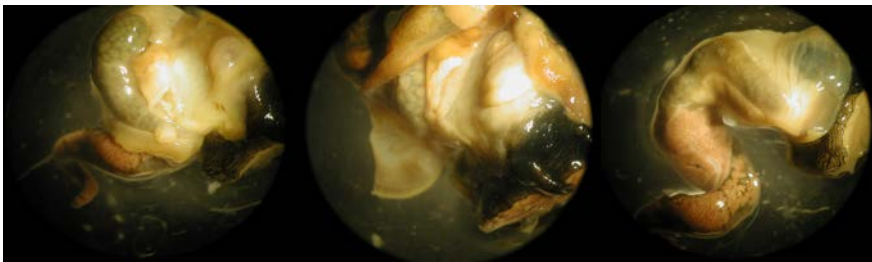


TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik, de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak langs de Nederlandse kust in 2013

M. Hoek-van Nieuwenhuizen, J. Jol en N.H.B.M. Kaag
Rapportnummer C176/13 [Vertrouwelijk, gedurende 6
maanden]



IMARES Wageningen UR

(IMARES - Institute for Marine Resources & Ecosystem Studies)

Oprichtgever:

Rijkswaterstaat Water, Verkeer en Leefomgeving
M. van der Weijden
Postbus 17, 8200 AA Lelystad

Publicatiedatum:

11 november 2013

IMARES is:

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

P.O. Box 68

1970 AB IJmuiden

Phone: +31 (0)317 48 09

00

Fax: +31 (0)317 48 73 26

E-Mail: imares@wur.nl

www.imares.wur.nl

P.O. Box 77

4400 AB Yerseke

Phone: +31 (0)317 48 09 00

Fax: +31 (0)317 48 73 59

E-Mail: imares@wur.nl

www.imares.wur.nl

P.O. Box 57

1780 AB Den Helder

Phone: +31 (0)317 48 09 00

Fax: +31 (0)223 63 06 87

E-Mail: imares@wur.nl

www.imares.wur.nl

P.O. Box 167

1790 AD Den Burg Texel

Phone: +31 (0)317 48 09 00

Fax: +31 (0)317 48 73 62

E-Mail: imares@wur.nl

www.imares.wur.nl

© 2013 IMARES Wageningen UR

IMARES, onderdeel van Stichting DLO.
KvK nr. 09098104,
IMARES BTW nr. NL 8113.83.696.B16.
Code BIC/SWIFT address: RABONL2U
IBAN code: NL 73 RABO 0373599285

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

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

A_4_3_1-V13.2

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave.....	3
Samenvatting.....	4
1. Inleiding.....	5
2. Methoden.....	6
2.1 Bemonsteringslocaties.....	6
2.2 Intersex en imposex.....	7
2.3 Chemische analyses.....	8
3. Resultaten.....	10
3.1 Intersex Gewone Alikruiken.....	10
3.2 Imposex Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken.....	10
3.3 Organotin gehalten.....	11
4. Discussie en conclusies.....	13
5. Kwaliteitsborging.....	15
Referenties.....	16
Verantwoording.....	18
Bijlage 1. Resultaten intersex analyse Gewone Alikruiken.....	19
Bijlage 2. Resultaten imposex analyse Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken.....	20
Bijlage 3. Gehalten aan organotinverbindingen in Gewone alikruiken, Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken 2013 in µg/kg nat gewicht.....	21
Bijlage 4.1 Resultaten referentiematerialen.....	22
Bijlage 4.2 Resultaten ringonderzoek Quasimeme in biota (labcode: Q127A IMARES).....	23
Bijlage 4.3 Rapportagegrenzen en meetonzekerheid.....	24

Samenvatting

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

Gewone Alikruiken zijn in vergelijking met andere gastropoden echter vrij ongevoelig voor TBT. In overleg met de opdrachtgever zijn in 2013 wederom naast de Gewone Alikruiken ook Gevlochten Fuikhoorns (*Nassarius reticulatus*) en Purperslakken (*Nucella lapillus*) verzameld. De Gevlochten Fuikhoorns zijn verzameld tijdens de schelpdierbemonsteringen die IMARES in opdracht van het Ministerie van EZ uitvoert. Voor de Purperslakken is een aparte bemonstering, speciaal voor dit onderzoek, uitgevoerd. Bij de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak resulteert TBT in imposex verschijnselen, een gevoeliger parameter dan intersex.

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

De gevlochten fuikhoorns werden bemonsterd op de locaties Haringvliet kustzone en Hollandse kustzone midden, Noord en Zuid. Zowel op de locatie Haringvliet kustzone, als op de locatie Hollandse kustzone midden zijn vrouwtjes met lichte verschijnselen van imposex aangetroffen (stadium 1a en 1b). Voor de locatie Hollandse kustzone midden resulteerde dit in een VDSI waarde van 0.19.

Purperslakken werden bemonsterd op de locaties Grevelingen kustzone en op Oosterschelde en Westerschelde kustzone. Op de locatie Westerschelde kustzone werd bij 8 van de 18 onderzochte vrouwtjes imposex geconstateerd (1 in stadium 1a, 3 in stadium 1b, 1 in stadium 1c, 1 in stadium 3b en 2 in stadium 4). Dit resulteerde in een VDSI waarde van 0.89. Op de overige twee onderzochte locaties zijn geen vrouwtjes met verschijnselen van imposex aangetroffen.

De gevonden VDSI waarde is op de locatie Westerschelde kustzone veel hoger dan in de voorgaande jaren. Op basis van de imposex-resultaten bij de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak, vallen alle onderzochte monsters in OSPAR Assessment Class A (VDSI Purperslak $<0,3$) of Class A/B (VDSI Gevlochten Fuikhoorn $<0,3$), behalve voor de locatie Westerschelde kustzone. Voor de locatie Westerschelde kustzone vallen de onderzochte monsters in OSPAR Assessment Class B (VDSI Purperslak $0,3 - < 2,0$).

De hoge VDSI voor de locatie Westerschelde kustzone correleert met het hoogst gevonden TBT-gehalte in de onderzochte monsters.

1. Inleiding

Sinds 2005 analyseert IMARES het voorkomen van intersex bij Gewone Alikruiken (*Littorina littorea*) die op vaste locaties langs de Nederlandse kust verzameld worden. Het doel van dit onderzoek is effecten van verontreiniging met organotinverbindingen, specifiek tributyltinverbindingen (TBT), vast te stellen. De uitvoering geschiedt volgens het Projectplan chemisch meetnet MWTL 2013; Monitoren van Biologische effecten in mariene slakken, auteur M.H. van der Weijden, van 22 maart 2013, hetgeen bij de aanvraag van de opdracht was toegevoegd.

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

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

Een alternatief is de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*). Deze soort wordt sinds enkele jaren regelmatig aangetroffen tijdens de jaarlijkse schelpdierssurveys die IMARES in opdracht van het Ministerie van EZ uitvoert in de Nederlandse wateren. Ook de Gevlochten Fuikhoorn vertoont imposex en is gevoeliger dan de Gewone Alikruik, maar niet zo extreem gevoelig als de Purperslak (Stroben *et al.*, 1992a; Bryan *et al.*, 1993; Oehlmann *et al.*, 1996). Vanaf 2009 zijn daarom niet alleen Gewone Alikruiken verzameld op de standaardlocaties, maar zijn ook op vijf locaties Gevlochten Fuikhoorns verzameld (Kaag *et al.*, 2009). De keuze van de locaties was van te voren alleen globaal bepaald (monding Westerschelde, monding Europoort en voor de kust van Noord-Holland), aangezien niet bekend was waar de aantallen hoog genoeg zouden zijn voor het verzamelen van een voldoende groot monster. Het bemonsteringsplan voor 2010 was geënt op de resultaten van 2009. Tijdens de bemonsteringen in 2011, 2012 en 2013 is naast de Gewone Alikruik en de Gevlochten Fuikhoorn, tevens de Purperslak als indicatorsoort bemonsterd (Tabellen 2, 3 en 4) en is de Nederlandse kustzone ingedeeld in bemonsteringsgebieden. Hierdoor kunnen binnen een gebied kleine monsters van een soort samengevoegd worden.

2. Methoden

2.1 Bemonsteringslocaties

Voor de bemonstering van slakken heeft RWS 9 aandachtsgebieden gedefinieerd (Tabel 1). In elk aandachtsgebied wordt 1 monster geanalyseerd.

In de Zeeuwse Delta worden eventueel Purperslakken gezocht langs dijken, indien de aantallen Gevlochten Fuikhoorns, net als in 2010, 2011 en 2012 te laag zijn.

Tabel 1 Voorgestelde onderzoeklocaties waar de verschillende geplande indicatorsoorten volgens projectplan 2013 bemonsterd dienen te worden (zie figuur 1 voor de ligging van de betreffende locaties)

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

In figuur 1 zijn de onderzoeklocaties met hun bijbehorende DONAR-codes en de geplande indicatorsoorten voor 2013 weergegeven die door de opdrachtgever in het projectplan zijn voorgesteld.

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



Figuur 1 Voorgestelde onderzoekslocaties in 2013 (uit Projectplan 2013).

2.2 Intersex en imposex

Gewone Alikruiken werden op 15 juli 2013 verzameld, door handmatig op de dijk te rapen bij laag water, op twee Waddenzee locaties (Tabel 2). Op beide locaties zijn voldoende Gewone Alikruiken geraapt voor de analyse van minimaal 40 individuen op het voorkomen van intersex en chemische analyse van de weefsels op organotin-verbindingen. De verzamelde Gewone Alikruiken zijn dezelfde dag gekoeld (koelbox met voldoende koelementen) naar het laboratorium in Yerseke vervoerd.

De intersex analyse is uitgevoerd conform Jol (2004). Intersex bij Gewone Alikruikken kan in een gradueel systeem geclassificeerd worden, waarbij 4 stadia worden onderscheiden, lopend van 0 (geen effect) tot 3 (volledig steriliteit).

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

ISI = som intersex stadia alle vrouwtjes/aantal vrouwtjes

Gevlochten Fuikhoorns werden tussen 7 mei en 22 april 2013 verzameld tijdens de WOT schelpdierbemonstering (Tabel 3). Tijdens deze bemonstering worden de schelpdieren bemonsterd met de IMARES-bodemschaaf in raaien van 150 meter lang. De schaaft is 15 cm breed, zodat een totale oppervlak van 22,5 m² wordt bemonsterd. De verzamelde Gevlochten Fuikhoorns werden zo mogelijk nog dezelfde dag aan boord van het schip geanalyseerd.

Purperslakken werden op 16 en 17 juli 2013 verzameld tijdens een aparte bemonstering speciaal voor dit project (Tabel 4). Purperslakken bevinden zich in het intertijdegebied en worden bij laag water handmatig van de stenen geraapt.

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

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

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

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

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

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

2.3 Chemische analyses

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

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

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

De volgende analysemethoden zijn toegepast:

Organotin:

Zes organotinverbindingen worden gerapporteerd (MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT en TPhT) als Sn en als kation. Bij deze methode wordt de extractie en derivatisering simultaan uitgevoerd. Een korte beschrijving van de methode is als volgt: Water gebufferd tot een pH 4-5 en een mengsel van azijnzuur en natrium acetaat, methanol en hexaan worden toegevoegd aan het gevriesdroogde monster. Na een continue toevoeging van natriumtetraethylboraat gedurende 15 minuten en continu roeren, wordt de pH boven de 12 gebracht met natriumhydroxide. De organische laag wordt d.m.v. centrifugeren gescheiden van de waterfase en het extract wordt gefractioneerd over een aluminiumoxide kolom. De stoffen worden, na concentratie van het monster, met behulp van GC-MS geanalyseerd (SIM mode). De analyse van organotinverbindingen is door de Raad voor Accreditatie opgenomen bij de geaccrediteerde verrichtingen op hun website (geldig van 27/02/2013 t/m 01/04/2017). De componenten TBT en DBT zijn geaccrediteerd (testlaboratoriumnummer L097, verrichting nummer 7). In verband met voortschrijdend inzicht hebben wij de methode op de volgende punten verbeterd: De hexaanlaag is gespoeld met methanol na derivatisatie, hetgeen een verbetering van de clean-up stap oplevert. Verder wordt geen gebruik meer gemaakt van plastic buizen, zodat minder last wordt ondervonden van achtergrondsignaal.

Droge stof:

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

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

De volgende Interne Standaard Werkvoorschriften (ISW) zijn gebruikt:

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

3. Resultaten

In de tabellen 2, 3 en 4 zijn de exacte posities aangegeven waar in 2013 Gewone Alikruiken, Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken bemonsterd zijn. Tevens zijn de bemonsterdata, locatienamen en de bijbehorende DONAR locatiecodes weergegeven.

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

Datum	Locatiennaam	DONAR-code	Coördinaten (WGS84)		Coördinaten (format DIA)	
			E	N	X	Y
15/07/2013	Waddenzee kustzone Oost	WADDZKZNOT	6°50.03'	53°27.25'	006500180	053271500
15/07/2013	Waddenzee kustzone West	WADDZKZNWT	5°26.14'	53°12.36'	005260840	053122160

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

Datum	Locatiennaam	DONAR-code	Coördinaten (WGS84)		Coördinaten (format DIA)	
			E	N	X	Y
22/04/2013	Hollandse kustzone Noord	HOLLSKZNNND	4°32.50'	52°44.00'	004323000	052440000
02/04/2013	Hollandse kustzone midden	HOLLSKZNMMDN	4°34.00'	52°36.00'	004340000	052360000
08/04/2013	Hollandse kustzone Zuid	HOLLSKZNNZD	4°22.50'	52°18.00'	004223000	052180000
07/05/2013	Haringvliet kustzone	HARVKZNE	3°52.50'	51°55.00'	003523000	051550000

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

Datum	Locatiennaam	DONAR-code	Coördinaten (WGS84)		Coördinaten (format DIA)	
			E	N	X	Y
16/07/2013	Grevelingen kustzone	GREVLGKZNE	3°49.55'	51°45.22'	003493300	051451320
16/07/2013	Monding Oosterschelde	OOSTSDKZNE	3°40.37'	51°37.24'	003402220	051371440
17/07/2013	Monding Westerschelde	WESTSDKZNE	3°34.55'	51°26.22'	003343300	051261320

Bij de bemonstering kon geheel aan het schema van het projectplan worden voldaan.

De resultaten van alle 9 afzonderlijke monsters worden zowel in dit rapport als in de DIF t.b.v. ICES gerapporteerd.

3.1 Intersex Gewone Alikruiken

In bijlage 1 zijn de resultaten weergegeven van de intersex analyse in de Gewone Alikruiken.

In 2013 werd geen intersex waargenomen in de geanalyseerde Gewone Alikruiken. Ongeveer de helft of meer van de onderzochte exemplaren bestond uit vrouwtjes.

3.2 Imposex Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken

Bij de Gevlochten Fuikhoorn werd bij het monster afkomstig van de Noordzee kustzone midden en bij het monster in de Haringvliet kustzone een lichte mate van imposex geconstateerd, terwijl op beide andere onderzochte locaties (Hollandse kustzone Noord en Zuid) geen imposex werd geconstateerd.

Bij de Purperslak werd op de onderzochte locaties Grevelingen kustzone en Oosterschelde kustzone geen imposex geconstateerd, terwijl op de locatie Westerschelde kustzone een aanzienlijke mate van imposex

werd geconstateerd, VDSI 0.89 (Tabel 5). Meer dan de helft van de onderzochte exemplaren bestond uit vrouwtjes, behalve bij de Westerschelde kustzone (38%). Op de locatie Westerschelde kustzone werd bij 8 van de 18 onderzochte vrouwtjes imposex geconstateerd (1 in stadium 1a, 3 in stadium 1b, 1 in stadium 1c, 1 in stadium 3b en 2 in stadium 4). In bijlage 2 zijn de volledige resultaten weergegeven van de imposex analyse van Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken.

Tabel 5 Resultaten imposex analyse 2013

Locatie	Soort	Aantal vrouwtjes (met imposex)	Aantal (Stadium)	VDSI
Hollandse kustzone Noord	Gevlochten Fuikhoorn	20 (0)		0.00
Hollandse kustzone midden	Gevlochten Fuikhoorn	27 (5)	4 (1a), 1 (1b)	0.19
Hollandse kustzone Zuid	Gevlochten Fuikhoorn	22 (0)		0.00
Haringvliet kustzone	Gevlochten Fuikhoorn	28 (2)	1 (1a), 1 (1b)	0.07
Grevelingen kustzone	Purperslak	27 (0)		0.00
Oosterschelde kustzone	Purperslak	23 (0)		0.00
Westerschelde kustzone	Purperslak	18 (8)	1 (1a), 3 (1b), 1 (1c), 1 (3b), 2 (4)	0.89

3.3 Organotin gehalten

De resultaten vermeld in dit rapport zijn alleen van toepassing op de geanalyseerde monsters. De analyses van de organotinverbindingen en van droge stof zijn in augustus/september 2013 uitgevoerd.

Qflex is het kwaliteitskenmerk voor flexibele scoop. De flexibele scoop wordt in dit geval echter als vaste scoop met bijbehorend kwaliteitskenmerk Q toegepast.

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

Voor de bepaling van de organotinverbindingen voldoen de metingen aan de kwaliteitscriteria, zoals gesteld in het geaccrediteerde werkvoorschrift. Aangezien de metingen van de organotinverbindingen voldoen aan alle kwaliteitscriteria, zoals genoemd in betreffend ISW, zijn de gerapporteerde gehalten als normale waarden (met kwaliteitswaardecode 0) gerapporteerd. Aangezien alleen de metingen van TBT en DBT onder accreditatie vallen, worden alleen deze resultaten met het kwaliteitskenmerk Q gerapporteerd.

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

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

De concentratie TBT kation varieerde van 0.7 µg/kg (Gevlochten Fuikhoorn, HARVKZNE) tot 9.2 µg/kg (Purperslakken, WESTSDKZNE).

In bijlage 4.1 zijn de gemeten gehalten in een meegeanalyseerd referentiemateriaal weergegeven. Het betreft het gecertificeerde referentiemateriaal mossel (CRM CE-477).

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

In bijlage 4.2 zijn de resultaten van deelname aan Quasimeme ringonderzoeken weergegeven. Quasimeme heeft echter met ingang van 2013 het tijdschema voor de rondes aangepast naar 2 rondes per jaar, te weten 1 maart 2013 t/m 1 juni 2013 en 1 oktober 2013 t/m 1 januari 2014. Aangezien deelname aan de eerste ronde van 2013 niet in het planningsschema van ons lab paste t.a.v. uit te voeren series analyses, heeft IMARES uit kostentechnisch oogpunt besloten deel te nemen aan de tweede ronde van 2013. De resultaten van deze tweede ronde zijn echter nog niet bekend bij het verschijnen van dit rapport en kunnen derhalve ook niet in de bijlage worden vermeld. Wel hebben we n.a.v. de slechte z-score in 2012 van ronde 68 ($z=13.3$) voor de component TBT in monster QSP040BT een heranalyse uitgevoerd in dit monster voor de componenten MBT, DBT en TBT met de herziene methode. De resultaten van de heranalyse zijn vermeld in bijlage 4.2. De z-scores voldeden aan het door Quasimeme gestelde criterium voor alle drie gemeten componenten.

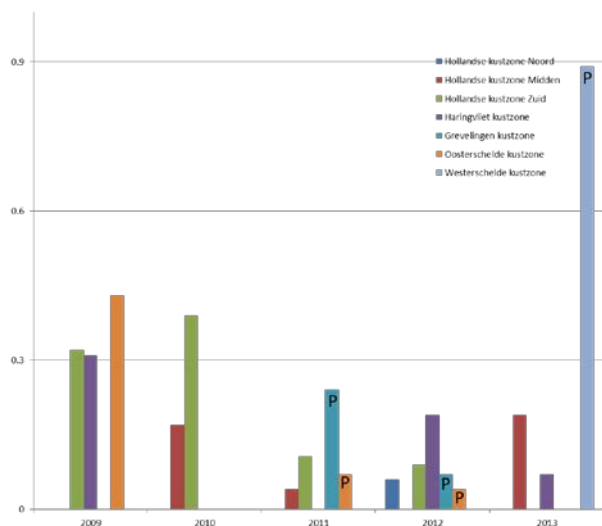
In bijlage 4.3 zijn de rapportagegrenzen van de monsters weergegeven. De OSPAR richtlijn voor de rapportagegrens voor TBT is $1 \mu\text{g/kg}$ nat gewicht uitgedrukt als kation en $0.4 \mu\text{g/kg}$ nat gewicht uitgedrukt als Sn (OSPAR Agreement, 2008-09). De rapportagegrenzen bij de toegepaste methode worden afgeleid van de laagste gemeten standaard. Vanwege verschillen in ingewogen hoeveelheden worden verschillende rapportagegrenzen gerapporteerd. Een compromis voor de rapportagegrenzen, berekend aan de hand van de gemiddelde inweeg van de monsters, is weergegeven in bijlage 4.3. De gerapporteerde rapportagegrenzen ($0.3 \mu\text{g/kg}$ nat gewicht uitgedrukt als kation en $0.1 \mu\text{g/kg}$ nat gewicht uitgedrukt als Sn) voldoen ruimschoots aan boven gestelde richtlijn voor de rapportagegrenzen voor TBT. Alle TBT-gehalten liggen ruim boven deze rapportagegrenzen.

4. Discussie en conclusies

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

In 2009 zijn voor het eerst Gevlochten Fuikhoorns verzameld langs de Nederlandse kust. Deze vertoonden in beperkte mate verschijnselen van imposex (Kaag *et al.*, 2009). In 2010 t/m 2013 werden wederom Gevlochten Fuikhoorns verzameld. Ten zuiden van de Nieuwe Waterweg werden echter te weinig Gevlochten Fuikhoorns gevonden. Er is daarom voor gekozen hier Purperslakken te bemonsteren. Om kleinere monsters samen te kunnen voegen tot een groot monster en om de analyse van Purperslakken aan te laten sluiten op die van de Gevlochten Fuikhoorns, zijn in 2011 wat grotere bemonsteringsgebieden vastgesteld. In 2013 zijn hiervan de definitieve begrenzingen met vaste coördinaten voor hoekpunten bekend geworden. Alle 9 te bemonsteren gebieden konden hierdoor dit jaar binnen de aangegeven grenzen bemonsterd worden. Voor het eerst konden dit jaar ook Purperslakken bemonsterd worden in Westerschelde kustzone. In 2012 zijn hier helemaal geen slakken aangetroffen. Hier bleek nog duidelijk imposex voor te komen.

De resultaten van de afgelopen 5 jaar zijn weergegeven in *Figuur 2*. Verschijnselen van imposex zijn dit jaar maar op 3 van de 9 bemonsterde gebieden waargenomen. Over het geheel is een duidelijke afname van imposex in slakken langs de Nederlandse kust waarneembaar, ondanks de relatief hoge imposex index in Westerschelde kustzone.



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

De VDSI van de Gevlochten Fuikhoorns valt bij de meeste locaties in OSPAR Assessment Class A/B (VDSI <0,3) (OSPAR, 2003; 2004). Dit is beter dan in 2009 en 2010 (Kaag *et al.*, 2009; 2010). Ook de VDSI van de Purperslak, een nog gevoeliger soort, wijst in deze richting. Voor deze soort was de VDSI in 2011 en 2012 <0.3, waarmee de desbetreffende locaties Assessment Class A scoren. Door de hoge imposex waarde valt Westerschelde kustzone in Assessment Class B (VDSI purperslak 0.3 - <2.0)

Geconcludeerd kan worden dat voor het tweede opeenvolgende jaar nauwelijks effecten van TBT gevonden zijn bij slakken in de Nederlandse kustzone. Dit wordt ondersteund door de lage TBT-gehalten in het vlees van de dieren. Alleen in de dieren uit Westerschelde kustzone waren de gehalten van m.n. TBT en DBT duidelijk hoger dan op de andere locaties.

5. Kwaliteitsborging

IMARES beschikt over een ISO 9001:2008 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem (certificaatnummer: 124296-2012-AQ-NLD-RvA). Dit certificaat is geldig tot 15 december 2015. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV Certification B.V. Daarnaast beschikt het chemisch laboratorium van de afdeling Vis over een NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005 accreditatie voor testlaboratoria met nummer L097. Deze accreditatie is geldig tot 1 april 2017 en is voor het eerst verleend op 27 maart 1997; deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie.

Om de kwaliteit van de analyses te garanderen participeert IMARES in de door QUASIMEME georganiseerde ringtesten betreffende de analyse van organotinverbindingen in biota.

Zie bijlage 4 voor de kwaliteitsparameters met betrekking tot de chemische analyses.

Referenties

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

Weijden, M.H. van der (2013). Projectplan chemisch meetnet MWTL 2013. Monitoren van Biologische effecten in mariene slakken, 22 maart 2013, RWS/Waterdienst.

Verantwoording

Rapport C176/13

Projectnummer: 4305111701

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

De lab coördinator heeft de analyse resultaten gecontroleerd en vrijgegeven:

Akkoord: M. Hoek-van Nieuwenhuizen
Lab coördinator

Handtekening:



Datum: 11 november 2013

Akkoord: Dr. ir. M.J.J. Kotterman
Projectleider

Handtekening:



Datum: 11 november 2013

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

Handtekening:



Datum: 11 november 2013

Bijlage 1. Resultaten intersex analyse Gewone Alikruiken

Intersex (Alikruiken)		Monster soort	Locatie	DONARcode	monster datum	aantal onderzocht	aantal vrouwtjes	gemiddelde penislangte vrouwtjes	gemiddelde penislangte mannetjes	aantal vrouwtjes met intersex	stadium					
RC-nummer	ILMSnr.										0	1	2	3	ISI	
RQ20130719/077	2013/2298	Alikruik	Waddenzee kustzone oost	WADDZKZNOT	15 juli 2013	40	30	0.0000	2.7400	0	0	1	0	0	0	0.00
RQ20130719/078	2013/2297	Alikruik	Waddenzee kustzone west	WADDZKZNWT	15 juli 2013	45	20	0.0000	0.2240	0	0	0	0	0	0	0.00

Bijlage 2. Resultaten imposex analyse Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken

Imposex (Purperslak en fuikhoorn)			DONARcode	monster datum	aantal onderzocht	aantal vrouwtjes	gemiddelde penis lengte vrouwtjes	gemiddelde penis lengte mannetjes	aantal vrouwtjes met imposex	stadium						VDSI	RPSI
RG-nummer	LIMSnr	Monster soort								0	1a	1b	1c	3b	4		
RG20130701/067	2013/2270	Fuikhoorn	HARVKZNE	7 mei 2013	40	28	0.0357	15.4583	2	26	1	1	0	0	0	0.07	0.000001
RG20130701/069	2013/2272	Fuikhoorn	HOLLSKZNMND	2 april 2013	40	27	0.0556	13.6923	5	22	4	1	0	0	0	0.19	0.000007
RG20130701/070	2013/2273	Fuikhoorn	HOLLSKZNNND	22 april 2013	40	20	0.0000	12.9250	0	20	0	0	0	0	0	0.00	0.000000
RG20130701/068	2013/2271	Fuikhoorn	HOLLSKZNZD	8 april 2013	40	22	0.0000	12.5000	0	22	0	0	0	0	0	0.00	0.000000
RG20130719/073	2013/2294	Purperslak	GREVLKZNE	16 juli 2013	40	27	0.0000	4.2692	0	27	0	0	0	0	0	0.00	0.000000
RG20130719/075	2013/2296	Purperslak	OOSTSDKZNE	16 juli 2013	40	23	0.0000	4.2941	0	23	0	0	0	0	0	0.00	0.000000
RG20130719/074	2013/2295	Purperslak	WESTSDKZNE	17 juli 2013	48	18	0.0778	3.9400	8	10	1	3	1	1	2	0.89	0.000770

Bijlage 3. Gehalten aan organotinverbindingen in Gewone alikruiken, Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken 2013 in µg/kg nat gewicht

Rnummer	ILMSnr.	Monster soort	DONARcode	Monster- datum	DBT Sn µg/kg	DBT kation µg/kg	DPHT Sn µg/kg	DPHT kation µg/kg	MBT Sn µg/kg	MBT kation µg/kg	MPHT Sn µg/kg	MPHT kation µg/kg	TBT Sn µg/kg	TBT kation µg/kg	TPHT Sn µg/kg	TPHT kation µg/kg	droge stof %
RG20130701/06712013/2270		Gevlochten Fuikhoorns	HARVKZNE	7 mei 2013	0.4	0.7	<0.1	<0.4	0.4	0.6	<0.2	<0.3	0.3	0.7	<0.1	<0.3	26.3
RG20130701/06812013/2271		Gevlochten Fuikhoorns	HOLLSKZND	8 april 2013	0.6	1.2	<0.4	<1.0	0.7	1.0	<0.5	<0.9	1.7	4.1	<0.3	<0.9	27.6
RG20130701/06912013/2272		Gevlochten Fuikhoorns	HOLLSKZNDND	2 april 2013	0.5	1.0	<0.2	<0.6	0.7	1.0	<0.3	<0.5	0.5	1.3	<0.2	<0.5	27.1
RG20130701/07012013/2273		Gevlochten Fuikhoorns	HOLLSKZNDND	22 april 2013	0.6	1.2	<0.2	<0.4	1.0	1.5	<0.2	<0.4	1.4	3.5	<0.1	<0.4	27.5
RG20130719/07312013/2294		Purperslakken	GREVLGKZNE	16 juli 2013	<0.3	<0.6	<0.3	<0.6	<0.3	<0.5	<0.3	<0.5	1.9	4.7	<0.2	<0.5	31.8
RG20130719/07412013/2295		Purperslakken	WESTSDKZNE	17 juli 2013	1.9	3.7	<0.3	<0.7	0.4	0.7	<0.4	<0.6	3.8	9.2	<0.2	<0.6	34.9
RG20130719/07512013/2296		Purperslakken	OOSTSDKZNE	16 juli 2013	<0.5	<1.0	<0.5	<1.1	<0.6	<0.9	<0.5	<0.9	1.8	4.5	<0.3	<0.9	33.4
RG20130719/07612013/2297		Gewone alikruiken	WADDZKZNWT	15 juli 2013	0.4	0.8	<0.1	<0.3	<0.2	<0.1	<0.3	0.3	0.8	<0.08	<0.3	<0.3	21.0
RG20130719/07712013/2298		Gewone alikruiken	WADDZKZNOT	15 juli 2013	0.7	1.3	<0.2	<0.5	<0.3	<0.4	<0.2	<0.4	1.0	2.5	<0.1	<0.4	20.6

alle gehalten zijn met kwaliteitswaardecode 0 (normale waarde) gerapporteerd in DONAR

Bijlage 4.1 Resultaten referentiematerialen

Component	Referentiemateriaal	IMARES-waarde		IMARES-waarde		ng/dg	gecertificeerde waarde	eenheid	kwalificatie
		in 2013	n	QC-kaart	totaal				
TBT als kation	ICRM CE477 (mossel)	2062.2 ± 28.2	2	2147.5 ± 406.1	24	dg	2200 ± 190	µg/kg	goed
DBT als kation	ICRM CE477 (mossel)	1318.9 ± 138.4	2	1450.1 ± 157.9	24	dg	1540 ± 120	µg/kg	goed
MBT als kation	ICRM CE477 (mossel)	1678.7 ± 517.5	2	1528.3 ± 202.3	24	dg	geen	µg/kg	goed
Vocht	haring/makreel IRM 2005/0775	70.10 ± 0.48	11	69.99 ± 0.52	171	ng	n.v.t.	%	goed

Bijlage 4.2 Resultaten ringonderzoek Quasimeme in biota (labcode: Q127A

IMARES)

Exercise	Round	Period	Matrix	Determinand	Mean	Units	Z-score	Qualification	Comment
964	68	jan-mei 2012	QSP040BT	ITBT	21.61	µg/kg	1.9	Satisfactory	hermeting
964	68	jan-mei 2012	QSP040BT	IDBT	1.868	µg/kg	-1.9	Satisfactory	hermeting
964	68	jan-mei 2012	QSP040BT	IMBT	0.925	µg/kg	1.2	Satisfactory	hermeting

De resultaten in bovenstaande tabel betreffen hermetingen t.b.v. validatie van de methode die we hebben herzien (zie ook paragraaf 3.3). Deze resultaten zijn dus niet gerapporteerd aan Quasimeme.

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

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

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

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

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

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

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

Bijlage 4.3 Rapportagegrenzen en meetonzekerheid

Component	rapportagegrens	detectielimiet	unit	ng/dg	v_c	n	d_c	Accreditatie
					rel. standard uncertainty (%)			
TBT als Sn	0.1		µg/kg	ng	15.4	2	0	Q
DBT als Sn	0.1		µg/kg	ng	16.1	4	0	Q
MBT als Sn	0.2		µg/kg	ng	nog niet vastgesteld, n<8	1		geen Q
TPhT als Sn	0.08		µg/kg	ng	niet vastgesteld			geen Q
DPhT als Sn	0.1		µg/kg	ng	niet vastgesteld			geen Q
MPhT als Sn	0.1		µg/kg	ng	niet vastgesteld			geen Q
TBT als kation	0.3		µg/kg	ng	15.4	2	0	Q
DBT als kation	0.3		µg/kg	ng	16.1	4	0	Q
MBT als kation	0.2		µg/kg	ng	nog niet vastgesteld, n<8	1		geen Q
TPhT als kation	0.3		µg/kg	ng	niet vastgesteld			geen Q
DPhT als kation	0.3		µg/kg	ng	niet vastgesteld			geen Q
MPhT als kation	0.3		µg/kg	ng	niet vastgesteld			geen Q
droge stof	1	0.5	%	ng	3.73	45	0	Q

op basis van juistheidsbepaling en monsterinhomogeniteit
verwaarloosbaar klein

n = aantal ringonderzoeken aan de hand waarvan een Z-score bepaald kon worden
 d_c is de combined constant error in de eenheid van de concentratie van de component
De rapportagegrens is berekend aan de hand van de gemiddelde inweeg van de monsters

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

Voor de rapportage aan OSPAR dient bij iedere meetwaarde de expanded uncertainty (95% betrouwbaarheidsinterval) berekend te worden. De expanded uncertainty is gedefinieerd als tweemaal de standaard deviatie. Voor OSPAR dient dus een absolute meetonzekerheid gerapporteerd te worden. De berekening van de absolute expanded uncertainty is gebaseerd op onderstaande formules uit de OSPAR guideline voor de bepaling van de meetonzekerheid. De relative standard uncertainty (uitgedrukt in %) wordt door IMARES als maat voor de v_c gehanteerd. In bijlage 4.3 zijn zowel de relative standard uncertainty ($=v_c$) als de constant error ($=d_c$) opgenomen. Beide dienen als input in de formules voor de berekening van de absolute expanded uncertainty.

Formules uit de OSPAR quideline:

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

waarin:

s_c = standard deviation (eenheid = eenheid van concentratie component)

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

v_c = variatie coëfficiënt (eenheid= percentage)

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

$$U_C = 2s_C$$

waarin:

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

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