

Eindrapport

Definiëren van de randvoorwaarden voor de bepaling van totaal N in afvalwater

C. Vanhoof, E. Poelmans en K. Tirez

Studie uitgevoerd in opdracht van Departement Leefmilieu, Natuur en Energie van de Vlaamse Overheid
2017/SCT/R/1049

Januari 2017



VITO NV

Boeretang 200 - 2400 MOL - BELGIE
Tel. + 32 14 33 55 11 - Fax + 32 14 33 55 99
vito@vito.be - www.vito.be

BTW BE-0244.195.916 RPR (Turnhout)
Bank 375-1117354-90 ING
BE34 3751 1173 5490 - BBRUBEBB

SAMENVATTING

Voor de bepaling van totaal N in afvalwater zijn verschillende methoden opgenomen in het WAC compendium:

- NBN EN ISO 11905-1:1998 Water quality – Determination of nitrogen – Part 1: Method using oxidative digestion with peroxodisulfate (ISO 11905-1:1997) (WAC/III/D/032) (= Kuvettentest)
- ISO 29441:2010 Water quality – Determination of total nitrogen after UV digestion – Method using flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection
- NBN EN 12260:2003 Water quality – Determination of nitrogen – Determination of bound nitrogen (TNb), following oxidation to nitrogen dioxide (WAC/III/D/033) (= CLD methode)
- Som van Kjeldahl-N en nitriet en nitraat (TON= totaal geoxideerde stikstof = $\text{NO}_3 + \text{NO}_2$)

Waarbij in het verleden de meerderheid van de erkende laboratoria de sommethode (Kj-N + TON) toepaste, is er momenteel meer en meer een verschuiving naar de inzetbaarheid van de chemiluminescentie (CLD) methode (WAC/III/D/033). Deze techniek biedt heel wat voordelen naar automatisatie, gebruiksvriendelijkheid en snelheid van de analyse, waarbij bovendien de kwaliteit van de analyse geborgd kan blijven. Gezien de CLD techniek meer en meer aan belang wint, werd de praktische uitvoering van deze techniek bestudeerd en besproken binnen de LNE Werkgroep Water.

Als alternatief voor de sommethode wordt door een aantal erkende laboratoria de peroxodisulfaat methode toegepast via de kuvettentest met robot (WAC/III/D/032). Bij toepassing van de peroxodisulfaat methode (kuvettentest met robot) werden systematisch te lage resultaten vastgesteld t.o.v. de andere methoden voor de bepaling van totaal N in afvalwater. In overleg met de leverancier werd de oorzaak achterhaald (aanpassing tubing en spoelprocedure van het systeem) en werden acties ondernomen om dit probleem op te lossen.

Controlemetingen en de organisatie van een proefronde hebben aangetoond dat het vastgestelde probleem is opgelost.

De vergelijkbaarheid van de diverse methoden voor de bepaling van totaal N in afvalwater werd geëvalueerd door de analyse van een 50-tal monsters (afval- en oppervlaktewater) met de verschillende technieken. Deze evaluatie werd uitgevoerd in samenwerking met het VMM labo. Bij de selectie van de diverse afvalstromen werden effluenten, influenten en zwaardere matrices geselecteerd. Een 20-tal monsters werden ad random gekozen, een 10-tal monsters zijn zwaarder beladen met zwevend stof (mixen vereist) en een 10-tal stromen zijn afkomstig van voedingsindustrie (aanwezigheid eiwit). Bij de selectie van de oppervlaktewaters werden monsters geselecteerd rekening houdend met een lagere concentratie, zoutbelasting en deeltjes.

Bij het uitvoeren van vergelijkende totaal N metingen in oppervlaktewater (n=20) en afvalwater (n=39) met de verschillende methoden (chemiluminescentie, kuvettentest, sommethode Kj-N + TON) worden vergelijkbare resultaten bekomen. Niettegenstaande de geteste bepalingsmethodes de stikstof species omzetten naar een verschillende eind vorm (i.e., NO_3^- , NO_x , NH_4^+), zijn er geen systematische afwijkingen waarneembaar. Het differentiëren naar een moeilijk omzetbare N-verbinding, specifiek per methode, voor het opvolgen van het omzettingsrendement is hierbij belangrijk (bv. nicotinamide / Kj-N; creatinine / kuvettentest). De bekomen verschillen voor deze monsters kunnen toegeschreven worden aan de normale meetspreiding die optreedt bij toepassing van verschillende methoden en bij uitvoering door verschillende laboratoria.

Tot slot werden de kwaliteitscontroles voor de verschillende methoden voor de bepaling van totaal N in afvalwater onder de loop genomen en alternatieven werden geëvalueerd. Op basis van de uitgevoerde metingen en besprekingen binnen de LNE Werkgroep Water werden de kwaliteitscontroles en criteria aangepast in de betreffende WAC methoden (zie §5.2 op pagina 22).

INHOUD

Samenvatting	I
Inhoud	III
Lijst van tabellen	V
Lijst van figuren	VI
HOOFDSTUK 1. Inleiding	1
HOOFDSTUK 2. Informatie omtrent methoden voor de totaal N bepaling	3
2.1. Inleiding	3
2.2. Verwerking ringtestgegevens	6
HOOFDSTUK 3. Knelpunten bij de peroxodisulfaat methode en proefronde totaal stikstof	9
3.1. Inleiding	9
3.2. Optimalisatie van de uitvoering van de kuvettenmethode	9
3.2.1. Vergelijkende metingen met CLD en kuvettentest (met robot)	9
3.2.2. Overleg met de leverancier	10
3.3. Proefronde totaal stikstof	10
3.4. Besluit	12
HOOFDSTUK 4. Vergelijkende totaal stikstof analyses	13
4.1. Inleiding	13
4.2. Opzet vergelijkende analyses van afval- en oppervlaktewaters	13
4.3. Statistische evaluatie van de resultaten	15
4.4. Resultaten duplo analyses	16
4.5. Resultaten afvalwater	16
4.6. Resultaten oppervlaktewater	18
4.7. Besluit vergelijkende analyses	19
4.8. Bespreking resultaten in de LNE werkgroepvergadering	19
HOOFDSTUK 5. Vastleggen van kwaliteitscontroles	21
5.1. Evaluatie van controlemonster voor de kuvettentest	21
5.2. Kwaliteitscontroles opgenomen in de WAC methoden	22
HOOFDSTUK 6. Besluit	24
Bijlage A: Statistische evaluatie van de vergelijkende analyses van de afval- en oppervlaktewaters	26
Literatuurlijst	30

LIJST VAN TABELLEN

Tabel 1 Samenvatting interlaboratorium ringtestresultaten voor de bepaling van totaal N in afvalwater	6
Tabel 2 Resultaten duplo analyses totaal N	16

LIJST VAN FIGUREN

Figuur 1 Resultaten voor totaal N van ringtesten 2012-2016 voor de matrices afval- en oppervlaktewater (Links: gehalten – Rechts: z-scores)	8
Figuur 2 Totaal N resultaten van monster TOTN/M1	11
Figuur 3 Totaal N resultaten van monster TOTN/M2	12
Figuur 4 Voorbeelden van afvalwater monsters	14
Figuur 5 Mixen van afvalwaters met deeltjes	14
Figuur 6 Vergelijkende totaal N resultaten met CLD van LAB 1 – LAB 2 voor de afvalwaters	16
Figuur 7 Vergelijkende totaal N resultaten CLD LAB 1 en Som Kj-N +TON voor de afvalwaters	17
Figuur 8 Vergelijkende totaal N resultaten CLD LAB 2 en Som Kj-N +TON voor de afvalwaters	17
Figuur 9 Vergelijkende totaal N resultaten Kuvettentest en Som Kj-N +TON voor de afvalwaters	18
Figuur 10 Vergelijkende totaal N resultaten met CLD van LAB 1 – LAB 2 voor de oppervlaktewaters	19
Figuur 11 Rendement creatinine voor de kuvettentest	21
Figuur 12 Rendement creatinine voor de kuvettentest opgesplitst i.f.v. meetgebied (laag/midden/hoog)	22

HOOFDSTUK 1. INLEIDING

Voor de bepaling van totaal N in afvalwater zijn verschillende methoden opgenomen in het WAC compendium:

- NBN EN ISO 11905-1:1998 Water quality – Determination of nitrogen – Part 1: Method using oxidative digestion with peroxodisulfate (ISO 11905-1:1997) (WAC/III/D/032) (= Kuvettentest)
- ISO 29441:2010 Water quality – Determination of total nitrogen after UV digestion – Method using flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection
- NBN EN 12260:2003 Water quality – Determination of nitrogen – Determination of bound nitrogen (TNb), following oxidation to nitrogen dioxide (WAC/III/D/033) (= CLD methode)
- Som van Kjeldahl-N en nitriet en nitraat (TON= totaal geoxideerde stikstof = $\text{NO}_3 + \text{NO}_2$)

Waarbij in het verleden de meerderheid van de erkende laboratoria de sommethode (Kj-N + TON) toepaste, is er momenteel meer en meer een verschuiving naar de inzetbaarheid van de chemiluminescentie (CLD) methode (WAC/III/D/033). Deze techniek biedt heel wat voordelen naar automatisatie, gebruiksvriendelijkheid en snelheid van de analyse, waarbij bovendien de kwaliteit van de analyse geborgd kan blijven. Gezien de CLD techniek meer en meer aan belang wint, is het wenselijk om de randvoorwaarden van deze techniek beter in kaart te brengen en waar nodig de WAC methode te optimaliseren.

De interesse voor de CLD techniek reflecteert zich ook op Europees vlak waar voor de bepaling van het gehalte aan organische koolstof en totaal stikstof in water in 2014 vanuit ISO TC147/CEN TC 230 een nieuw work item voor norm ontwikkeling werd gedefinieerd (met chemiluminescentie).

Both parameters (TOC and TNb) are important indicators to evaluate contaminants demanding for oxygen in water (TOC) and nutrients (TNb for nitrogen compounds) in water and to draw conclusions for water quality management.

The proposed method allows a sensitive and economic determination of carbon and nitrogen compounds in e.g. environmental water samples. It offers the application of the TOC and TNb determination as individual specifications as well as for the simultaneous TOC/TNb determination using a combined analytical equipment connecting an infrared detector (TOC) with a chemiluminescence detector (TNb) in line placed after the combustion unit.

In eerste instantie werd in deze studie alle beschikbare informatie gebundeld omtrent de bepaling van totaal N in water. Deze gegevens omvatten de beschikbare normmethoden en reeds uitgevoerde onderzoeksopdrachten omtrent dit item. Bijkomend wordt een overzicht gegeven van de beschikbare ringtestresultaten voor totaal N in oppervlakte- en afvalwater voor de periode 2012-2016.

Als alternatief voor de sommethode wordt door een aantal erkende laboratoria de peroxodisulfaat methode toegepast via de kuvettentest met robot (WAC/III/D/032). Bij deze methode werden problemen vastgesteld voor de bepaling van totaal N in afvalwater, resulterend in een onderschatting van het analyseresultaat met $\pm 15\%$. De problemen werden aangekaart bij de

leverancier, acties werden gedefinieerd en een beperkte proefronde werd ter controle georganiseerd.

De vergelijkbaarheid van de diverse methoden voor de bepaling van totaal N in afvalwater werd geëvalueerd door de analyse van een 50-tal monsters (afval- en oppervlaktewater) met de verschillende technieken. Deze evaluatie werd uitgevoerd in samenwerking met het VMM labo dat eveneens beschikt over een toestel met chemiluminescence detector. Door VMM werden een 50-tal monsters (afval- en oppervlaktewater) gecollecteerd voor de bepaling van het gehalte aan totaal N. Volgende methoden werden geëvalueerd:

- Chemiluminescentie methode: metingen door VMM en VITO
- Kuvettentest (robot): metingen door VMM
- Som van Kjeldahl-N en TON: metingen door erkend laboratorium (Provinciaal Centrum voor Milieuonderzoek)

De bekomen resultaten werden met elkaar vergeleken.

Tijdens de LNE werkgroepvergadering Water werden de verschillende methoden voor de bepaling van totaal N, inclusief chemiluminescentie, besproken en werd door de erkende laboratoria terugkoppeling gegeven wat betreft de praktische uitvoering van deze methoden.

Tot slot werden de kwaliteitscontroles voor de verschillende methoden voor de bepaling van totaal N in afvalwater onder de loop genomen en alternatieven werden geëvalueerd. Op basis van de uitgevoerde metingen en besprekingen binnen de LNE Werkgroep Water werden de kwaliteitscontroles en criteria aangepast in de betreffende WAC methoden.

HOOFDSTUK 2. INFORMATIE OMTRENT METHODEN VOOR DE TOTAAL N BEPALING

2.1. INLEIDING

Totale stikstof is een groepsparameter en bestaat uit de som van verschillende stikstofverbindingen, zowel organische als anorganische. De belangrijkste vormen van stikstof in water zijn nitraat, nitriet, ammoniak en organische stikstof. Organische stikstof wordt functioneel gedefinieerd als de organisch gebonden stikstofverbindingen in de driewaardige negatieve oxidatiegraad. Het bevat echter niet alle organische stikstofverbindingen. Organische stikstofverbindingen omvatten natuurlijke stoffen zoals proteïnen en peptiden, nucleïnezuren en urea, en verschillende synthetische organische stoffen.

De rechtstreekse bepaling van de totale stikstof vereist een omzetting van de verschillende stikstofverbindingen in één welbepaalde vorm. Hierbij kunnen verschillende analytische methoden resulteren in verschillende terugvindingsgraden, afhankelijk van hun mogelijkheid om de diverse stikstof species om te zetten naar de gewenste vorm. In een aantal gevallen bevatten waters stikstofverbindingen die niet gemakkelijk worden omgezet wat kan resulteren in de rapportering van te lage stikstofgehalten.

De methoden die momenteel gangbaar zijn bij de bepaling van totaal stikstof in water bestaan uit 2 stappen: in een eerste stap worden de diverse stikstof species omgezet naar één welbepaalde vorm, bv. nitraat. In de daarop volgende stap wordt het nitraatgehalte bepaald via spectrofotometrie. Deze omzetting naar nitraat kan gebeuren via nat chemische oxidatie of directe oxidatie via UV. Bij chemiluminescentie als techniek worden de diverse species omgezet naar NO_x .

Naast deze 2 methoden is het ook mogelijk om totale stikstof te bepalen als de som van Kjeldahl-N, nitraat en nitriet. Analytisch gezien kunnen organische stikstof en ammoniak tegelijkertijd bepaald worden als Kjeldahl-stikstof. Deze term geeft de techniek weer die wordt aangewend voor deze bepaling. Totaal oxideerbare stikstof (TON) is gelijk aan de som van nitraat en nitriet stikstof.

De beschikbare Europese en Internationale normmethoden die ter beschikking zijn en ook opgenomen zijn in het Compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC) zijn¹:

- ISO 11905-1:1997 Water quality – Determination of nitrogen – Part 1: Method using oxidative digestion with peroxodisulfate (WAC/III/D/032), verder aangeduid als OD-CFA^a.

Deze methode beschrijft de bepaling van het stikstofgehalte in water onder de vorm van vrij ammoniak, ammonium, nitriet, nitraat en organische stikstofverbindingen die door oxidatie omgezet worden naar nitraat. Opgelost stikstofgas wordt niet bepaald met deze methode. Oxidatie wordt uitgevoerd met peroxydisulfaat in een gebufferd basisch systeem door koken onder hoge druk in een afgesloten systeem. Vervolgens wordt de nitraat in een met koper geactiveerde cadmiumkolom gereduceerd tot nitriet, dat vervolgens na kleurreactie spectrofotometrisch wordt gemeten bij 540 nm. Deze methode is geschikt voor de bepaling van het totaal stikstofgehalte in grond-, zee-, drink- en oppervlaktewater en behandelde effluënten. Het is ook bruikbaar voor

^a OD-CFA: oxidative digestion-continuous flow analyser

afvalwater met maximum 40 mg/l organisch materiaal, uitgedrukt als C en gemeten als TOC, of 120 mg/l, uitgedrukt als O₂ en gemeten als COD.

Wanneer de maximale monsterhoeveelheid gebruikt wordt, is de bepaling geschikt tot 5 mg N/l, bij hogere concentraties dient minder staal ontsloten te worden. De detectielimiet bedraagt 0,02 mg/l N, maar is afhankelijk van de gebruikte methode voor de bepaling van nitraat na de oxidatie.

- ISO 29441:2010 Water quality – Determination of total nitrogen after UV digestion – Method using flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection, verder aangeduid als UV-CFA^b.

Deze standaard beschrijft een methode voor de bepaling van totaal stikstof in verschillende types water (zoals grond-, drink-, oppervlakte- en afvalwater) na inline UV digestie in een (massa)concentratiegebied voor totaal stikstof van 2 mg/l tot 20 mg/l.

- EN 12260:2003 Water quality – Determination of nitrogen –Determination of bound nitrogen (TN_b), following oxidation to nitrogen dioxide, verder aangeduid als CC-CLD.

Deze methode beschrijft de bepaling van het stikstofgehalte in water onder de vorm van vrije ammoniak, ammonium, nitriet, nitraat en organische stikstofverbindingen die door oxidatie kunnen omgezet worden naar stikstofdioxide. De bepaling wordt uitgevoerd met een chemiluminescentie detector. Opgelost stikstofgas wordt niet bepaald met deze methode. Oxidatie wordt uitgevoerd door een katalytische verbranding van de N-verbindingen in een zuurstofatmosfeer bij meer dan 700°C, tot stikstofdioxide. Reactie met ozon resulteert in elektronisch geëxciteerd stikstofdioxide waarvan de stikstof concentratie bepaald wordt door chemiluminescentie.

Afhankelijk van het gebruikte monstervolume, is de bepaling mogelijk tot 200 mg/l N, bij hogere concentraties dient het monster verdund te worden. De detectielimiet bedraagt 0,5 mg/l N, afhankelijk van het gebruikte monstervolume.

- Som van Kjeldahl-N en nitriet en nitraat (TON, totaal oxideerbare stikstof).

ISO 5663:1984 Water quality – Determination of Kjeldahl nitrogen – Method after mineralization with selenium.

In 2011 werd reeds binnen het VITO laboratorium een evaluatie uitgevoerd van de verschillende methoden voor de bepaling van totaal stikstof in afvalwater². Deze studie had tot doel de verschillende methoden die in omloop zijn voor de bepaling van totaal stikstof in afvalwater onderling te vergelijken en de knelpunten te visualiseren. Hierbij werd de focus gelegd op Kjeldahl N + TON (Kj-N+TON), meting van totaal N met doorstroomanalyse na peroxydisulfaatdestructie (OD-CFA) enerzijds en on-line UV destructie (UV-CFA) anderzijds. Deze technieken werden in eerste instantie toegepast en vergeleken op een aantal standaarden en vervolgens werden de methodes onderling vergeleken op een 30-tal reële afvalwatermonsters (representatief voor hoog organisch beladen en analytisch problematische matrices). De gegevens werden verder aangevuld met oxidatieve verbranding met chemiluminescentie detectie (CC-CLD) data die door een leverancier werden aangeleverd en een extra dataset (UV-CFA)-(CC-CLD) metingen in oppervlaktewater vanwege de VMM.

Voor wat de methoden afzonderlijk betreft werd vastgesteld dat:

- Juistheid: De terugvinding van de standaarden die met de diverse meetmethoden gemeten werden zijn vergelijkbaar met de waarden teruggevonden in de literatuur. De terugvinding van de nicotinezuurstandaard die het rendement van de destructie bepaalt, bedraagt in elk van de vier methoden meer dan 90%.

^b UV-CFA: UV-digestion-continuous flow analyser

- Reproduceerbaarheid: De Kj-N+TON methode is beperkt automatiseerbaar en vertoont de grootste spreiding binnen de methode zelf (voornamelijk in het concentratiegebied < 10 mg N/l). De overige methoden OD-CFA, UV-CFA of CC-CLD zijn wel automatiseerbaar en eveneens minder belastend wat betreft reagentia verbruik.

Voor wat de methoden onderling betreft op reële afvalwaters werd vastgesteld dat:

- De gemiddelde verschillen tussen twee methoden op de geanalyseerde afvalwaters in sommige gevallen groter zijn dan de prestatie-eis van 10 %.
- De 95% limieten van overeenkomst tussen twee methoden in de meeste gevallen groter zijn dan de wettelijke prestatie-eis van 20 %.

Volgende aandachtspunten werden geformuleerd om overeenstemming tussen de methoden te verbeteren:

- Aanwezigheid van deeltjes: de aanwezigheid van vaste stoffen speelt ontegensprekelijk een belangrijke rol in de verschillen die vastgesteld worden. Het gebruik van een homogenisator (bv. ultraturrax) is belangrijk om in deze gevallen een representatieve testportie te bekomen bij on-line digestiemethoden.
- Het C-gehalte: zowel bij de destructie als bij de verbranding kan het C-gehalte voor een onvolledige recovery van het totaal-N gehalte zorgen (OD-CFA : TOC < 40 mg C/l; UV-CFA : TOC < 100 mg C/l). Dit kan worden ondervangen door voorafgaandelijk het TOC gehalte te bepalen, verschillende verdunningen in te zetten of standaard additie uit te voeren.
- De N-verbinding: In de geanalyseerde afvalwaters is stikstof gemiddeld voor 75 % aanwezig als "ammonium en organische stikstof" en slechts voor 25 % als "nitraat en nitriet". Bij oxidatieve digestie dient dus de grootste fractie aan aanwezig stikstof te worden geoxideerd en verhoogt de kans op onvolledige omzetting. In het geval van chemiluminescentie detectie wordt de kans op interferentie als gevolg van de DeNOx reactie (recombinatie effect van NH₃ en NO) groter, ook resulterend in een mogelijke onderschatting van de werkelijke waarde. Daarentegen kunnen bij relatief hogere waarden van nitraat versus ammonium, verliezen optreden tijdens de Kjeldahl destructie door vorming van lachgas (combinatie effect van NH₃ en NO₃ tot N₂O).

Dit onderzoek heeft aangetoond dat bijkomende afspraken met de erkende laboratoria noodzakelijk zijn om de verschillende gangbare methodes in betere overeenstemming te brengen voor hoog organisch beladen en analytisch problematische matrices. Bijgevolg werd in 2012 aanvullend een interlaboratorium vergelijking uitgevoerd³. De bedoeling was om de verschillende methoden verder te evalueren aan de hand van een interlaboratoriumvergelijking met de erkende laboratoria en dit teneinde de randvoorwaarden beter te definiëren.

De bekomen resultaten van de interlaboratorium ringtest voor de bepaling van totaal N in afvalwater bevestigden dat:

- het totaal N gehalte in afvalwater met voldoende betrouwbaarheid (volgens eis beschreven in bijlage 4.2.5.2 van VLAREM II) kan bepaald worden.
- de verschillende beschikbare Europese en Internationale normmethoden, opgenomen in WAC/III/D, kunnen worden toegepast mits aan de beschreven randvoorwaarden wordt voldaan.
- voor de verschillende methoden de volgende randvoorwaarden dienen gerespecteerd te worden:
 - o bij aanwezigheid van deeltjes is mechanisch mixen een vereiste om also een representatieve testportie te bekomen.
 - o bij toepassing van de chemiluminescentietechniek en de oxidatieve digestie methode dient het TOC of CZV gehalte voorafgaandelijk aan de analyse gemeten te

worden om alsoo interferentie bij de totaal N bepalen te kunnen elimineren (inzetten van verdunningen).

Tijdens deze laatste studie werd een beperkte ringtest georganiseerd waarbij 5 monsters werden gedistribueerd aan de erkende laboratoria voor de bepaling van totaal N. In Tabel 1 is een samenvatting gegeven van de bekomen ringtestresultaten voor de bepaling van totaal N in afvalwater.

Tabel 1 Samenvatting interlaboratorium ringtestresultaten voor de bepaling van totaal N in afvalwater

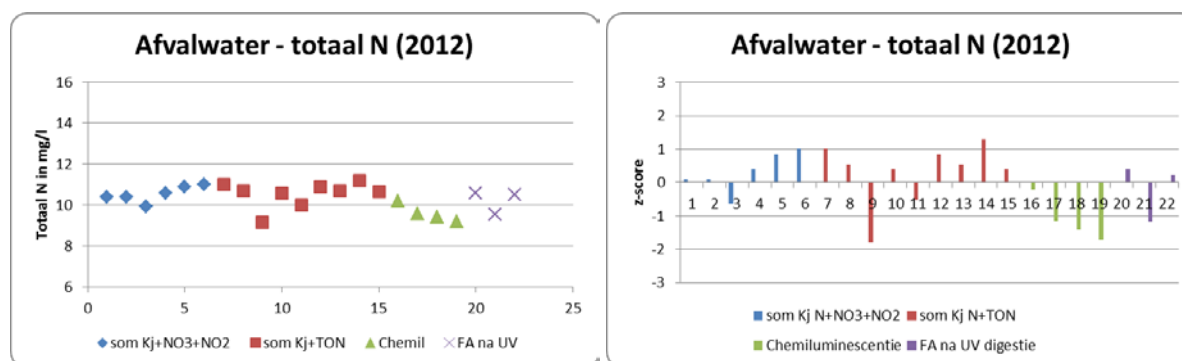
	#	Gemidd. (alle data) mg N/l	% CV _R	#	Gemidd. (zonder uitschieters) mg N/l	% CV _R
Monster 2012/TOTN-01	27	55	5.9			
Monster 2012/TOTN-02	27	20	9.7			
Monster 2012/TOTN-03	26	5.6	26	19	5.9	12
Monster 2012/TOTN-04	27	90	7.8	25	91	4.4
Monster 2012/TOTN-05	25	8.0	7.3			

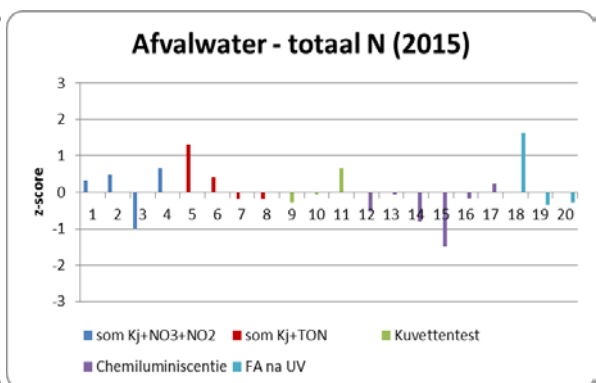
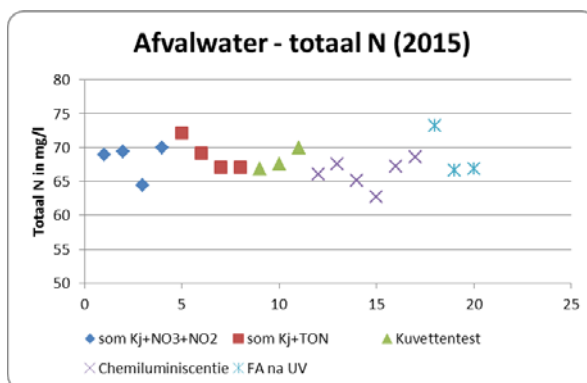
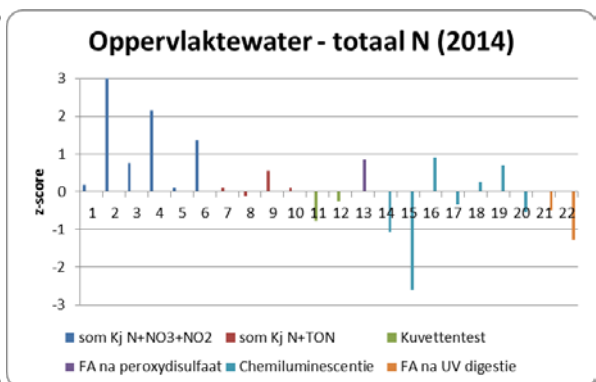
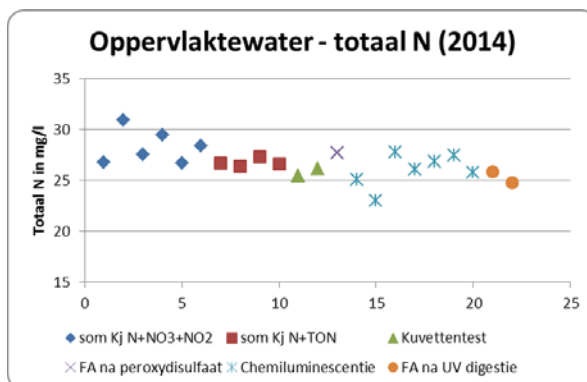
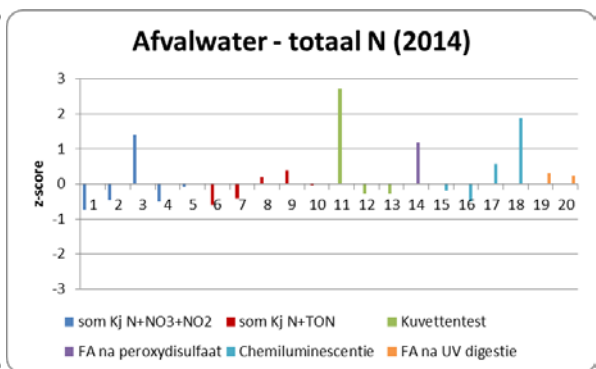
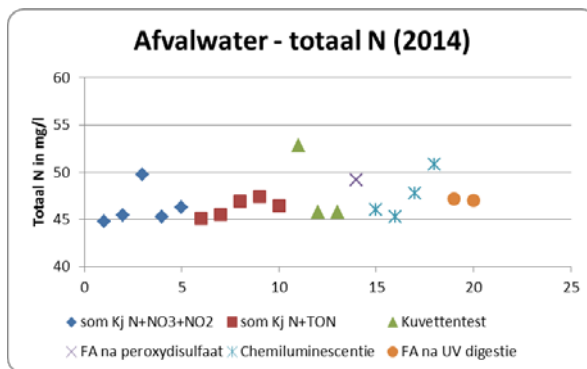
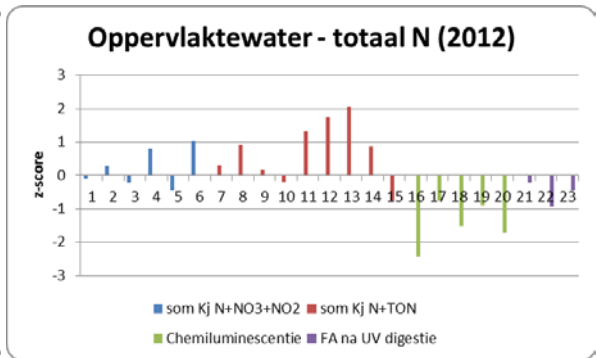
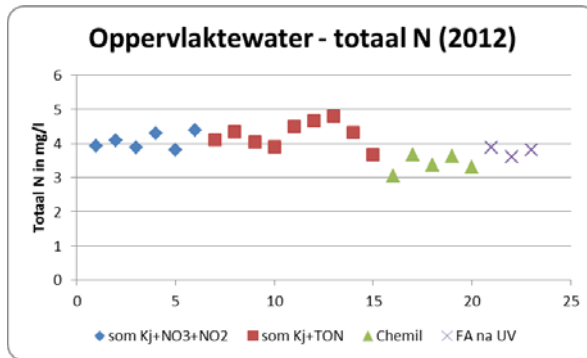
De inzetbaarheid van de chemiluminescentietechniek en de oxidatieve digestiemethode voor de bepaling van totaal N in afvalwater laten toe om “duurzamer technieken” (minder verbruik van de reagentia) in te zetten in vergelijking met de traditionele methode (Kjeldahl-N + TON). Bovendien resulteren deze methoden in een aanzienlijke vereenvoudiging van de procedure alsook in de mogelijkheid tot een verhoogde automatisatie bij het uitvoeren van routine analyses.

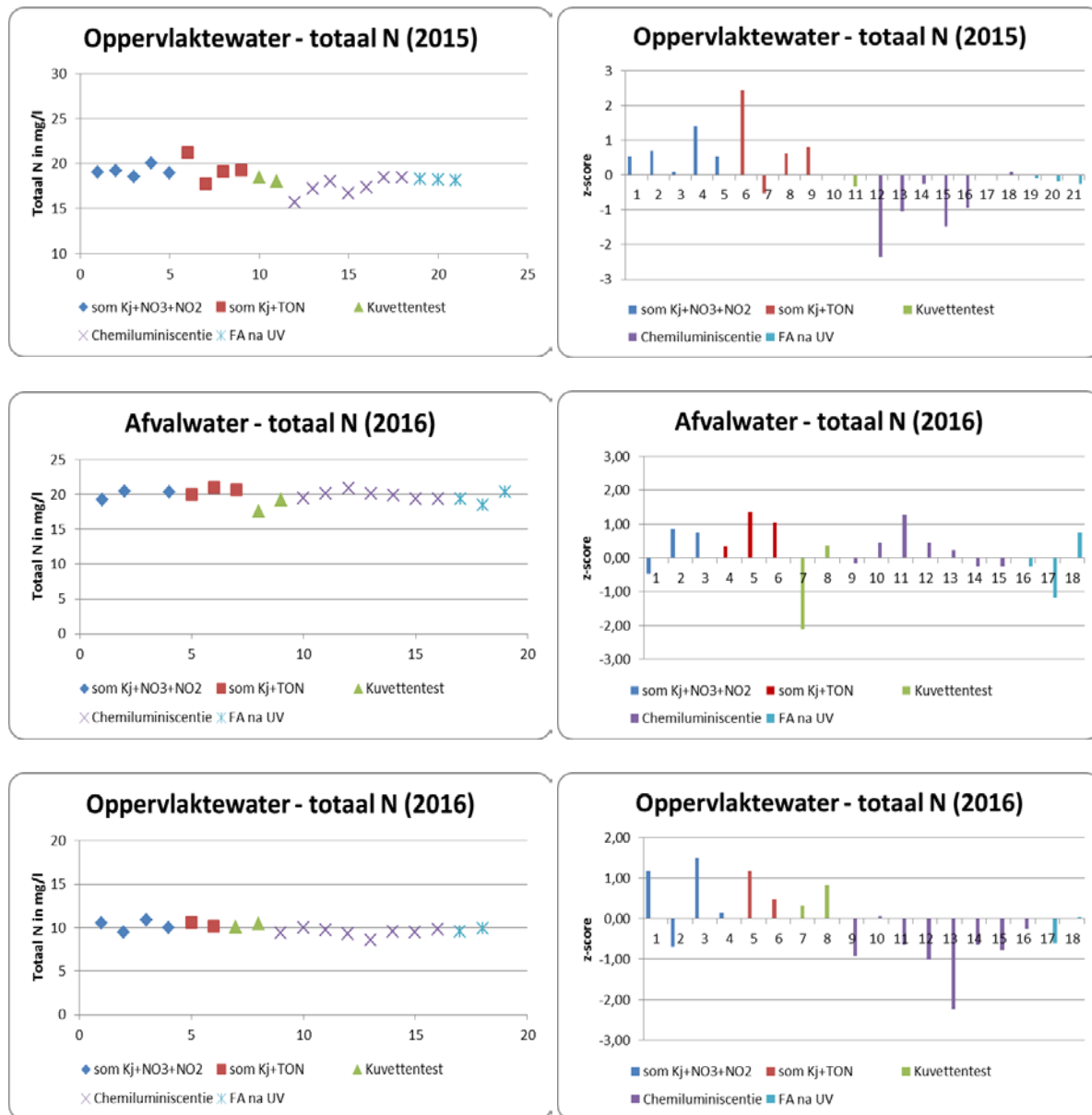
De bepalingsmethode voor totaal N met chemiluminescentie wordt bijgevolg meer en meer ingezet bij de erkende laboratoria gezien zijn gebruiksvriendelijkheid en automatiseerbaarheid.

2.2. VERWERKING RINGTESTGEGEVENS

In Figuur 1 is een overzicht gegeven van de ringtestresultaten voor de bepaling van totaal N in afval- en oppervlaktewater, en dit voor de periode 2012 t.e.m. 2016. In de figuur zijn zowel de gehalten aan totaal N (links) weergegeven, alsook de z-scores (rechts).







Figuur 1 Resultaten voor totaal N van ringtesten 2012-2016 voor de matrices afval- en oppervlaktewater (Links: gehalten – Rechts: z-scores)

HOOFDSTUK 3. KNELPUNTEN BIJ DE PEROXODISULFAAT METHODE EN PROEFRONDE TOTAAL STIKSTOF

3.1. INLEIDING

Door de laboratoria werd in 2015 aangekaart dat bij toepassing van de peroxodisulfaat methode (kuvettentest met robot) een systematisch lagere afwijking van $\pm 15\%$ optreedt in vergelijking met de sommethode (Kj-N + TON) en de chemiluminescentie methode (CLD).

Deze systematische afwijking werd niet vastgesteld bij de evaluatie en implementatie van de peroxodisulfaat methode in WAC/III/D/032. Deze laatste werd voorafgegaan aan een literatuurstudie en een proefronde tussen laboratoria (rapport 2012/MANT/R/7² en 2013/SCT/R/026³).

Bij evaluatie van de ringtestresultaten voor totaal N en Kjeldahl N in de perioden 2013-2015 waaraan ongeveer 20 laboratoria hebben deelgenomen, werden er geen statistische afwijkingen vastgesteld tussen de toegepaste methoden.

In dit hoofdstuk is het onderzoek beschreven naar het oplossen van de knelpunten die werden vastgesteld bij toepassing van de peroxodisulfaat methode.

Volgende acties werden gedefinieerd om de oorzaak van dit verschil te traceren:

- Uitvoeren van vergelijkende analyses op diverse afvalwaters met enerzijds de peroxodisulfaat methode in de drie meetbereiken en anderzijds met de CLD methode.
- Bij de fabrikant van de kuvettentest robot werd nagevraagd of de concentratie van de reagentia in de verschillende ranges van de kuvetten voldoet aan ISO 11905-1;

3.2. OPTIMALISATIE VAN DE UITVOERING VAN DE KUVETTENMETHODE

3.2.1. VERGELIJKENDE METINGEN MET CLD EN KUVETTENTEST (MET ROBOT)

Door VMM werden vergelijkende testen uitgevoerd van een 100-tal afvalwaters met de CLD methode en de kuvettentest. Uit de resultaten blijkt voor de kuvettentest een negatieve afwijking van 15% t.o.v. de CLD methode, hetgeen zich eveneens manifesteert in een te lage spike recovery voor de NH₄-N standaard bij de kuvettentest (85%).

Er werden geen systematische verschillen vastgesteld tussen aangezuurde en niet aangezuurde monsters werden, alsook niet voor analyse van monsters met de 3 meetbereiken.

Uit de controle van de kalibratiefunctie met NH₄ en met NO₃ standaarden in de 3 meetbereiken blijkt dat de helling consistent 0.88 bedraagt, wat ook weer een onderschatting in dezelfde grootte orde weerspiegelt.

3.2.2. OVERLEG MET DE LEVERANCIER

Met de leverancier Hach Lange werd er een overleg gepleegd om dit probleem te bespreken.

Wat betreft de chemische samenstelling en de praktische uitvoering van de kuvettentest zijn er geen indicaties dat dit leidt tot afwijkende resultaten met andere methoden en is deze methode gelijkwaardig met ISO 11905-1.

Bij de kuvettentest (met robot) zijn 3 meetbereiken beschikbaar nl.

- 1 – 16 mg N/l;
- 5 – 40 mg N/l
- 20 – 100 mg N/l.

De praktische werking van de 3 meetbereiken is identiek en verschilt enkel in de intake hoeveelheid van het te analyseren monster. De hoeveelheid persulfaat toegevoegd voor de oxidatie ligt voor de 3 meetgebieden een factor 3 hoger dan de hoeveelheid voorgeschreven in ISO 11905-1:

- ISO 11905-1: 8.33 mg/l persulfaat per ml monster;
- Kuvetten: 26.2-27.2 mg/l persulfaat per ml monster.

De kuvettentest is bijgevolg in staat om hogere concentraties aan organische componenten volledig te oxideren.

Interferenties:

- ISO 11905-1: 120 mg/l COD
- Kuvetten:
 - o Laag meetgebied: 400 mg/l COD;
 - o Midden meetgebied: 1000 mg/l COD;
 - o Hoog meetgebied: 2500 mg/l COD

Bij de leverancier werd verder onderzoek gepleegd om de oorzaak van de afwijking te achterhalen. Uit deze evaluatie kwam naar voren dat het aanpassen van de tubings alsook een efficiënter spoelproces de oorzaak van de afwijking zou moeten verhelpen. Bij alle erkende laboratoria die analyses uitvoeren met de kuvettentest, werden de nodige aanpassingen aan de tubings uitgevoerd, en een software update om het spoelproces te optimaliseren.

Uit de controlemetingen die hierop volgen blijkt dat de systematische afwijking niet meer optreedt. Om de kwaliteit van deze metingen te controleren werd in januari 2016 een proefronde georganiseerd met de erkende laboratoria voor evaluatie van de verschillende methoden voor de bepaling van totaal N in afvalwater, inclusief de kuvettentest.

3.3. PROEFRONDE TOTAAL STIKSTOF

In januari 2016 werd een proefronde georganiseerd voor de bepaling van totaal N in afvalwater. Hiervoor werden 2 monsters verdeeld aan de erkende laboratoria (n=22).

Tijdens deze proefronde werden verschillende methoden voor bepaling van totaal N toegepast. De resultaten van volgende methoden werden bijgevolg vergeleken:

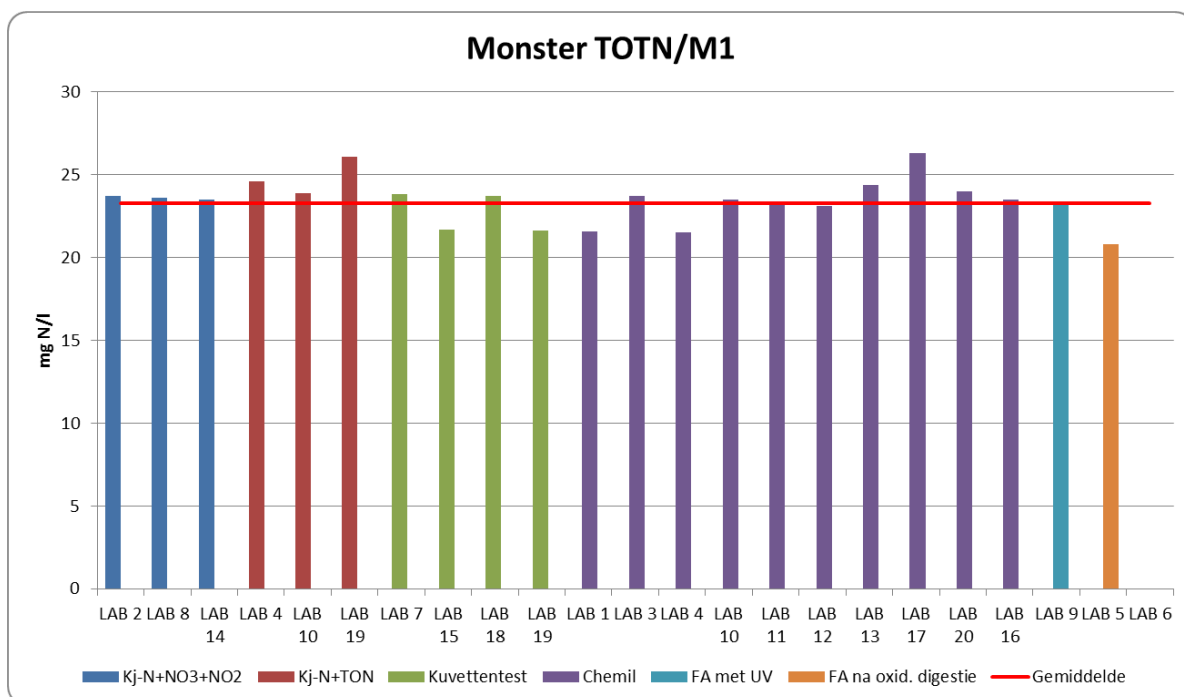
- Kjeldahl-N + NO₃+NO₂ (n=3)
- Kjeldahl-N + TON (n=3)
- Kuvettentest (n=4)
- Chemiluminescentie (n=10)
- Flow analyser na UV digestie (n=1)

- Flow analyser na off-line digestie per peroxodisulfaat (n=1)

Volgende monstertypes werden verdeeld:

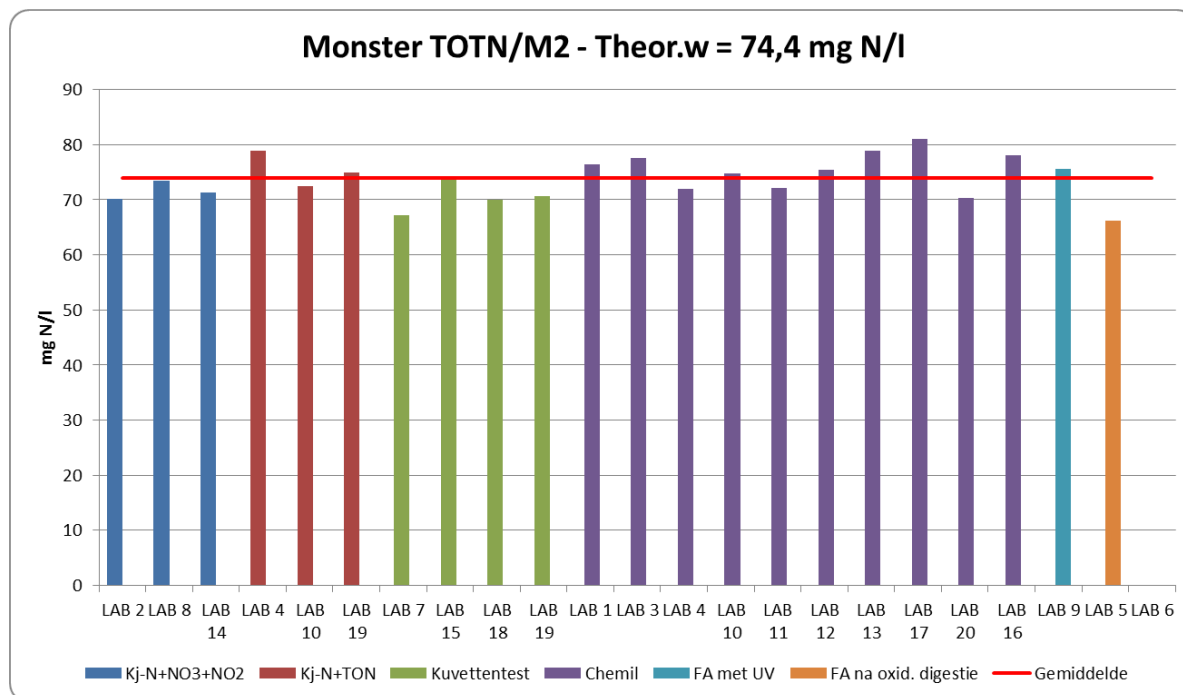
- Monster TOTN/M1: Influent RWZI
- Monster TOTN/M2: Standaardoplossing van 70 mg N-NH₄/l (op basis van NH₄Cl) en COD gehalte van 700 mg O₂/l (op basis van kaliumwaterstoftalaat)

Voor het monsters TOTN/M1 werd een gemiddelde waarde bekomen van 23,4 mg N/l met een RSD van 5,8 % (n=22). De individuele resultaten zijn weergegeven in Figuur 2.



Figuur 2 Totaal N resultaten van monster TOTN/M1

Voor het monsters TOTN/M2 werd een gemiddelde waarde bekomen van 73,7 mg N/l met een RSD van 5,3 % (n=22). De individuele resultaten zijn weergegeven in Figuur 3.



Figuur 3 Totaal N resultaten van monster TOTN/M2

Uit de bekomen resultaten kan afgeleid worden dat voor deze monsters vergelijkbare resultaten worden bekomen bij toepassing van de verschillende methoden. Er worden geen discrepanties vastgesteld bij een welbepaalde methode.

De resultaten werden statistisch verwerkt en de individuele resultaten werden aan de deelnemende laboratoria bezorgd.

3.4. BESLUIT

Bij toepassing van de peroxodisulfaat methode (kuvettentest met robot) werden systematisch te lage resultaten vastgesteld t.o.v. de andere methoden voor de bepaling van totaal N in afvalwater. In overleg met de leverancier werd de oorzaak achterhaald (aanpassing tubing en spoelprocedure van het systeem) en werden acties ondernomen om dit probleem op te lossen.

Controlemetingen en de organisatie van een proefronde hebben aangetoond dat het vastgestelde probleem is opgelost.

HOOFDSTUK 4. VERGELIJKENDE TOTAAL STIKSTOF ANALYSEN

4.1. INLEIDING

Waarbij in het verleden de meerderheid van de erkende laboratoria de sommethode (Kj-N + TON) toepaste, is er momenteel meer en meer een verschuiving naar de inzetbaarheid van de chemiluminescentie (CLD) methode (WAC/III/D/033). Deze techniek biedt heel wat voordelen naar automatisatie, gebruiksvriendelijkheid en snelheid van de analyse, waarbij bovendien de kwaliteit van de analyse geborgd kan blijven. Gezien de CLD techniek meer en meer aan belang wint, werd onderzoek verricht naar het definiëren van de randvoorwaarden voor de CLD methoden. In dit kader werden vergelijkende analyses uitgevoerd van reële afval- en oppervlaktewaters, werd de praktische uitvoering van deze techniek bestudeerd en aansluitend besproken binnen de LNE Werkgroep Water.

4.2. OPZET VERGELIJKENDE ANALYSEN VAN AFVAL- EN OPPERVLAKTEWATERS

Voor de bepaling van totaal N werden met verschillende technieken vergelijkende analyses uitgevoerd op 20 oppervlaktewaters (OW) en 39 afvalwaters (AW). Analyses werden uitgevoerd door VITO, VMM en een erkend laboratorium (Provinciaal Centrum voor Milieuonderzoek). Volgende analysetechnieken werden in deze studie toegepast:

- OW: bepaling van totaal N met de chemiluminescentietechniek (CLD), uitgevoerd door VMM en VITO
- AW: bepaling van totaal N met
 - o Chemiluminescentietechniek (CLD), uitgevoerd door VMM en VITO
 - o Kuvettentest met robot, uitgevoerd door VMM
 - o Kj-N + TON (totaal geoxideerde stikstof), uitgevoerd door erkend laboratorium (PCM)

De monsters werden door VMM aangeleverd in reeksen van 12 monsters (4 OW en 8 AW) verspreid in 5 batchen in de periode maart – juni 2016. De monsters werden niet geconserveerd aangeleverd aan het laboratorium, bij aankomst werd de gewenste conservering toegevoegd (HCl, H₂SO₄).

Bij de selectie van de diverse afvalstromen werden effluenten, influenten en zwaardere matrices geselecteerd (zie Figuur 4). Een 20-tal monsters werden ad random gekozen, een 10-tal monsters zijn zwaarder beladen met zwevend stof (mixen vereist, zie Figuur 5) en een 10-tal stromen zijn afkomstig van voeding, slachterij met mogelijks hoog eiwitgehalte.

Bij de selectie van de oppervlaktewaters werden monsters geselecteerd rekening houdend met een lagere concentratie, zoutbelasting en deeltjes.



Figuur 4 Voorbeelden van afvalwater monsters



Figuur 5 Mixen van afvalwaters met deeltjes

Bijkomende informatie omtrent de monsters werd bekomen omtrent de parameters:

- zwevend stof, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, o- PO_4 , Cl, CZV, gemeten door VMM
- NPOC, gemeten door VITO

Bij aanleveren van de monsters werd bij elke reeks 1 oppervlakte- en 1 afvalwatermonster in duplo gemeten. Hiervoor werd door de 3 laboratoria hetzelfde monster weerhouden.

Bij het uitvoeren van de analyses werden per techniek de minimaal toe te passen kwaliteitscontroles gedefinieerd. Volgende kwaliteitscontroles werden uitgevoerd:

- Chemiluminescentie methode (CLD)
 - o Afzonderlijke meting van ammonium-N en nitraat-N (concentratie van 5 mg N/l)
 - » Individuele component afwijking $\leq 10\%$
 - » Berekenen van responsfactor ammonium-N/nitraat-N: gelegen tussen 0,9 en 1,1
 - o Onafhankelijke controle van nicotineamide: afwijking $\leq 10\%$
 - » Laag gebied
 - » Hoog gebied
 - o Bijkomende test: creatinine 5 mg N/l

- Kuvettentest (robot): afhankelijk van meetgebied: 5, 20 of 50 mg N/l
 - o Ammonium-N: rendement 90-110%
 - o Nitraat-N: min. 90%
 - o Nicotinezuur: min. 90%
 - o Bijkomende test: creatinine
- Som Kj-N + TON
 - o Ureum: min. 90%
 - o Nicotinamide: min 90%
 - o Bijkomende test: creatinine

4.3. STATISTISCHE EVALUATIE VAN DE RESULTATEN

Een statistische evaluatie van de geanalyseerde afvalwaters (39 monsters) en de oppervlaktewaters (20 monsters) werd uitgevoerd waarbij de 4 respectievelijk 2 toegepaste methoden werden geëvalueerd. De bedoeling van het statistisch onderzoek is te onderzoeken of de analysemethoden gelijke resultaten opleveren. Voor de afvalwaters zijn 36 resultaten weerhouden (2 hoge meetwaarden en 1 waarde met $z > 1.5$ zijn uit het bestand verwijderd). Voor de oppervlaktewaters zijn alle data weerhouden.

Volgende statistische technieken werden gebruikt:

1. Variantieanalyse of F-toets voor de gelijkheid van k-populatiegemiddelden

Met de variantieanalyse wordt onderzocht of er een significant verschil bestaat tussen k populatiegemiddelden. De nulhypothese is dat het gemiddelden uit de steekproeven aan elkaar gelijk zijn. De toetsingsgrootte is :

$F = \frac{s^2_{\text{extern}}}{s^2_{\text{intern}}}$. De grootte s^2_{extern} geeft de variantie tussen de steekproeven aan (tussen-variantie), terwijl s^2_{intern} de variantie weergeeft van de waarnemingen binnen één steekproef.

Er is aangenomen dat er maar één invloedsfactor is, nl. de analysemethode. De variantieanalyse werd uitgevoerd voor de afvalwaters en de oppervlaktewaters.

Voor het uitvoeren van de test werden twee software pakketten gebruikt: statistica en Matlab. Voor statistica is dat de routine ANOVA, voor matlab de routine anova1.

2. T-test

Voor oppervlaktewater zijn er slechts 2 analysemethoden gebruikt. De variantieanalyse is hier eigenlijk een klassieke t-toets waarin ook onderzocht wordt of twee populatiegemiddeldes van elkaar verschillen.

De t-test werd toegepast voor de oppervlaktewaters, maar ook voor de afvalwaters waar het CLD-LAB1-resultaat achtereenvolgens werd vergeleken met CLD-LAB2, Kuvettentest en sommethode (Kj-N+TON).

Voor het uitvoeren van de t-test is het pakket statistica gebruikt.

3. Test van Link-Wallace: meervoudige vergelijking van k populatiegemiddelden

Met de Link-Wallace toets wordt onderzoek gedaan naar het significant niet-nul zijn van alle mogelijke verschillen tussen k populatiegemiddelden. De steekproeven hebben alle dezelfde grootte. Bij de Link-Wallace toets wordt de variantieschatting afgeleid uit de spreidingsbreedte tussen de steekproefgemiddelden.

Voor de Link-Wallace toets is een eigen verwerking gedaan.

4.4. RESULTATEN DUPLO ANALYSEN

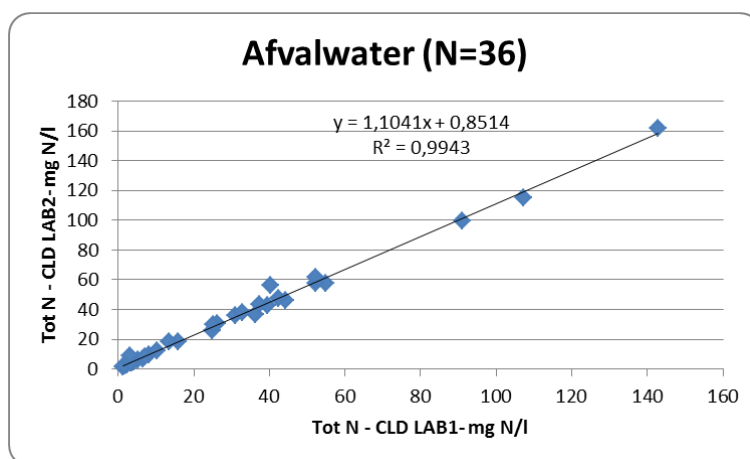
Op een selectie van de monsters werden duplo analyses uitgevoerd. De bekomen resultaten zijn beschreven in Tabel 2. Bij toepassing van de kuvettentest is de meetspreiding hoger in vergelijking met de andere methode, echter zijn de verschillen binnen aanvaardbare waarden.

Tabel 2 Resultaten duplo analyses totaal N

Matrix	Methode	N	% CV _R
Oppervlaktewater	CLD (lab 1)	5	2.1%
Oppervlaktewater	CLD (lab 2)	5	3.3%
Afvalwater	CLD (lab 1)	6	4.5%
Afvalwater	CLD (lab 2)	6	2.6%
Afvalwater	Kuvettentest	6	6.5%
Afvalwater	Som Kj-N + TON	4	3.1%

4.5. RESULTATEN AFVALWATER

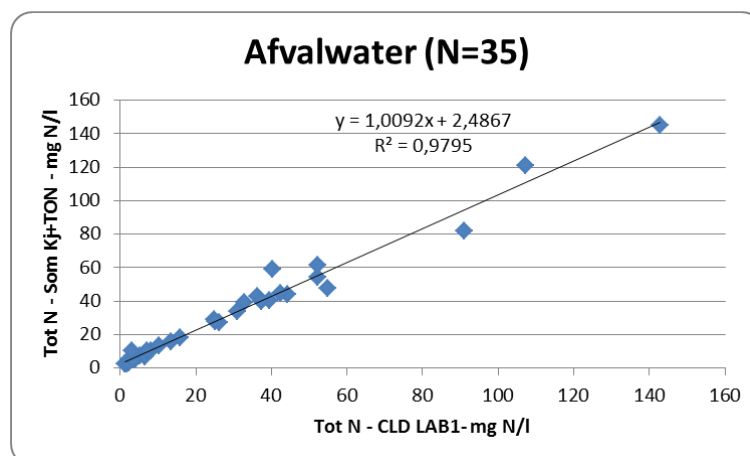
De bekomen resultaten voor de bepaling van totaal N in afvalwater liggen in een meetbereik van 1 mg N/t tot 400 mg N/l. Echter slechts 2 meetpunten liggen tussen 160 en 400 mg N/l en worden bijgevolg niet mee opgenomen in onderstaande figuur. In Figuur 6 zijn de vergelijkende totaal N metingen weergegeven (range 1 – 160 mg N/l) bekomen met de CLD methode door LAB 1 en LAB 2. Tussen beide laboratoria wordt een regressiecoëfficiënt van 0.9943 bekomen en een helling van 1.1041.



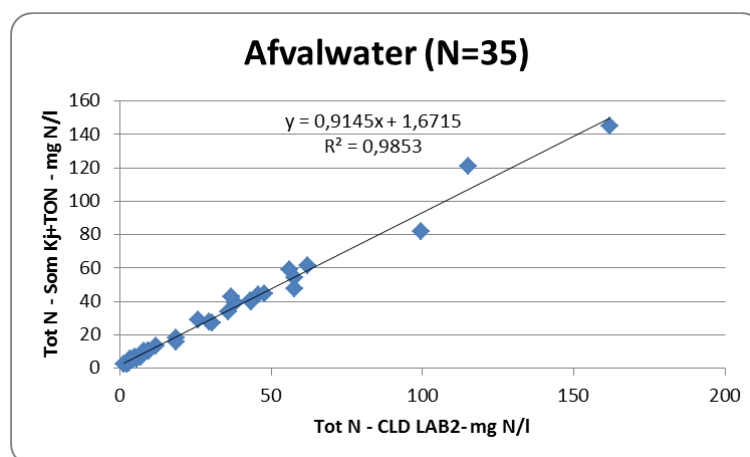
Figuur 6 Vergelijkende totaal N resultaten met CLD van LAB 1 – LAB 2 voor de afvalwaters

In Figuur 7 en Figuur 8 is een vergelijkende evaluatie uitgevoerd tussen de CLD methode (resp. LAB 1 en LAB 2) en de sommethode (Kj-N + TON). Voor beide evaluaties wordt een goede

overeenstemming bekomen tussen de verschillende methoden met een helling van 1.0092 en R^2 van 0.9795 enerzijds en 0.9145 en R^2 van 0.9853 anderzijds. De vastgestelde verschillen kunnen toegeschreven worden aan normale meetspreidingen bij toepassing van verschillende methoden door verschillende laboratoria.

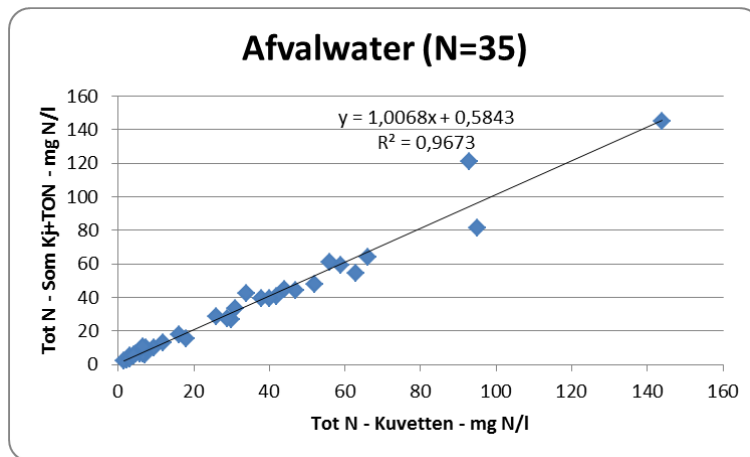


Figuur 7 Vergelijkende totaal N resultaten CLD LAB 1 en Som Kj-N +TON voor de afvalwaters



Figuur 8 Vergelijkende totaal N resultaten CLD LAB 2 en Som Kj-N +TON voor de afvalwaters

In Figuur 9 zijn de vergelijkende totaal N resultaten weergegeven tussen de kuvettentest (robot) en de sommethode (Kj-N + TON) voor de matrix afvalwater. Tussen beide methoden wordt een goede overeenstemming bekomen met een helling van 1.0068 en R^2 van 0.9673.



Figuur 9 Vergelijkende totaal N resultaten Kuvettentest en Som Kj-N +TON voor de afvalwaters

Uit de statistische evaluatie kan afgeleid worden dat voor:

1. Variantieanalyse of F-toets voor de gelijkheid van k-populatiegemiddelden

De variantieanalyse voor afvalwater toont aan dat er geen verschil is tussen de verschillende analysemethoden.

2. T-test

De t-test voor afvalwater, waar het CLD-LAB1-resultaat achtereenvolgens werd vergeleken met CLD-LAB2, Kuvettentest en sommethode (Kj-N+TON) toont aan dat de gemiddelden aan elkaar gelijk zijn.

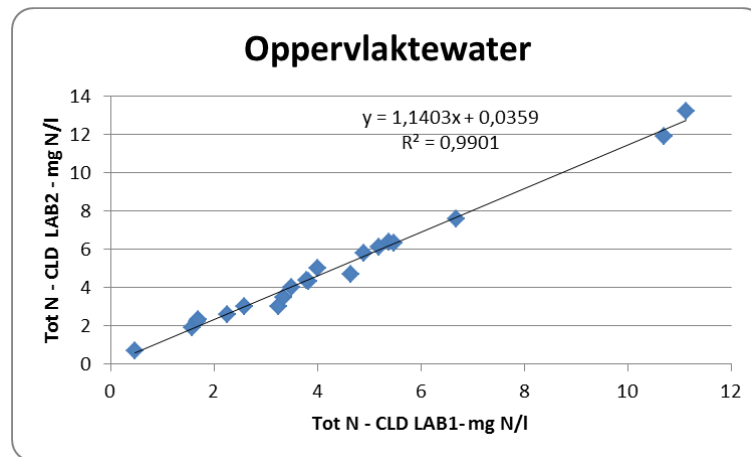
3. Test van Link-Wallace: meervoudige vergelijking van k populatiegemiddelden

De test van Link-Wallace geeft aan dat voor de afvalwaters er geen verschil bestaat tussen de methoden.

De statistische evaluatie is weergegeven in bijlage A.

4.6. RESULTATEN OPPERVLAKTEWATER

De vergelijkende totaal N resultaten bekomen met CLD van LAB 1 en LAB 2 voor de oppervlaktewaters zijn weergegeven in Figuur 10. Rekening houdend met de lage gehalten aan totaal N (beperkt tot maximaal 15 mg N/l) wordt een goede correlatie bekomen met een helling van 1.1403 en een R^2 van 0.9901. Zoals reeds aangegeven bij de evaluatie van de data voor afvalwater, is het verschil in resultaat tussen beide laboratoria grotendeels toe te schrijven aan normale meetspreiding.



Figuur 10 Vergelijkende totaal N resultaten met CLD van LAB 1 – LAB 2 voor de oppervlaktewaters

Uit de statistische evaluatie kan afgeleid worden dat voor:

1. Variantieanalyse of F-toets voor de gelijkheid van k-populatiegemiddelden

De variantieanalyse voor oppervlaktewater toont aan dat er geen verschil is tussen de verschillende analysemethoden.

2. T-test

De t-test toont aan dat voor oppervlaktewaters beide analysemethoden dezelfde resultaten geven.

3. Test van Link-Wallace: meervoudige vergelijking van k populatiegemiddelden

De test van Link-Wallace geeft aan dat voor de oppervlaktewaters er geen verschil bestaat tussen de methoden.

De statistische evaluatie is weergegeven in bijlage A.

4.7. BESLUIT VERGELIJKENDE ANALYSEN

Bij het uitvoeren van vergelijkende totaal N metingen in oppervlaktewater (n=20) en afvalwater (n=39) met de verschillende methoden (chemiluminescentie, kuvettentest, sommethode Kj-N + TON) worden vergelijkbare resultaten bekomen. Er zijn geen systematische afwijkingen waarneembaar. De bekomen verschillen voor deze monsters kunnen toegeschreven worden aan de normale meetspreiding die optreedt bij toepassing van verschillende methoden en bij uitvoering door verschillende laboratoria.

4.8. BESPREKING RESULTATEN IN DE LNE WERKGROEPVERGADERING

Tijdens de LNE werkgroepvergadering van 27 oktober 2016 werden de bovenstaande resultaten gepresenteerd en besproken met de erkende laboratoria.

De praktische uitvoering van de CLD methode (WAC/III/D/033) werd overlopen en volgende opmerkingen werden geformuleerd door de laboratoria:

- Voor de kalibratie wordt door alle erkende laboratoria een mix (50/50) van ammonium en nitraat gebruikt.
- De analyseportie intake bij de laboratoria varieert tussen de 50 en 200 µl.
- Het beperken van het meetgebied tot 10 mg N/l wordt als te strikt ervaren (en is afhankelijk van type toestel). Gevalideerde meetgebieden binnen de laboratoria zijn tot 40, 80 en 100 mg N/l.
- Een dagelijkse kalibratie is niet noodzakelijk. Bij de kalibratie is het wel van essentieel belang dat de monsters in éénzelfde medium worden aangemaakt als de kalibratiestandaarden. Vooral het toevoegen van zuur heeft een invloed op het uiteindelijke analyseresultaat.
- Het type katalysator is ook belangrijk voor het bekomen van éénzelfde responsfactor voor ammonium en nitraat (en ook afhankelijk is of al dan niet een zuur wordt gebruikt).

Volgende opmerking werd geformuleerd voor de kuvetmethode (WAC/III/D/032):

- Er werd aangegeven dat de aanwezigheid van eiwitten mogelijks kan leiden tot een verschil tussen het totaal stikstofgehalte na oxidatieve digestie met peroxodisulfaat (lager gehalte) in vergelijking met de chemiluminescentie (hoger gehalte).

Algemene opmerkingen:

- De rapporteergrens voor totaal N in afvalwater bedraagt 2 mg N/l ligt, echter voor oppervlaktewater is er nog geen eis vooropgesteld maar de 30% van de normwaarde bedraagt 0.3 mg N/l. De chemiluminescentie methode biedt de mogelijkheid om in de toekomst ook voor afvalwater lagere N-gehalte te kunnen rapporteren.
- Bij berekening van Kjeldahl-N als een verschil tussen totaal N en TON kan er een grote meetonzekerheid op het berekend getal zijn. Bijkomend wordt aangegeven dat in deze gevallen de hoge nitraat gehalten eveneens zullen storen wanneer een rechtstreekse Kj-N wordt uitgevoerd.

HOOFDSTUK 5. VASTLEGGEN VAN KWALITEITSCONTROLES

Het vastleggen van de kwaliteitscontroles in de betreffende WAC methoden is van belang. Specifiek voor de kuvettenmethode werd een alternatief controlemonster geëvalueerd voor opvolging van de oxidatie-efficiëntie.

5.1. EVALUATIE VAN CONTROLEMONSTER VOOR DE KUVETTENTEST

Voor de kuvettentest werd door de erkende laboratoria gedurende 1 jaar geëvalueerd of een creatinine standaard een efficiënter controlemonster is ter vervanging van een nicotinamide of nicotinezuur standaard, dit ter controle van de oxidatie efficiëntie.

De gegevens, bekomen van 3 erkende laboratoria, werden besproken tijdens de werkgroepvergadering Water van 27/10/2016.

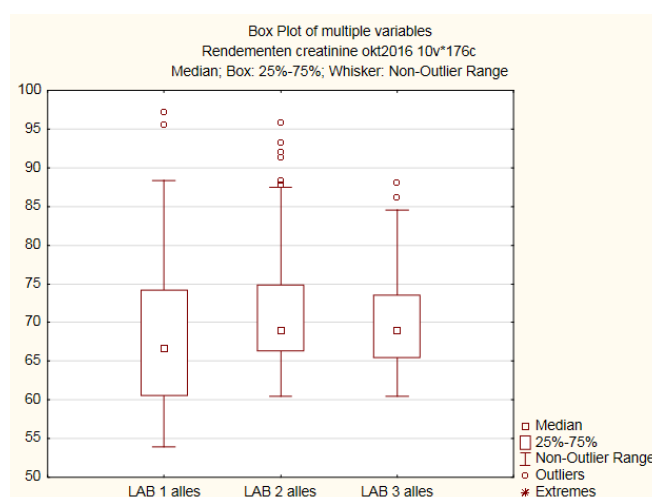
Voor de kuvettentest zijn er 3 meetgebieden van toepassing en werden volgende controlestandaarden geëvalueerd:

- APC 138: 1 – 16 mg N/l met controlestandaarden op niveau 3 – 5 mg N/l
- APC 238: 5 – 40 mg N/l met controlestandaarden op niveau 15 – 20 mg N/l
- APC 338: 20 – 100 mg N/l met controlestandaarden op niveau 30 – 50 mg N/l

Het aantal resultaten gerapporteerd door de 3 erkende laboratoria i.f.v. het meetgebied is:

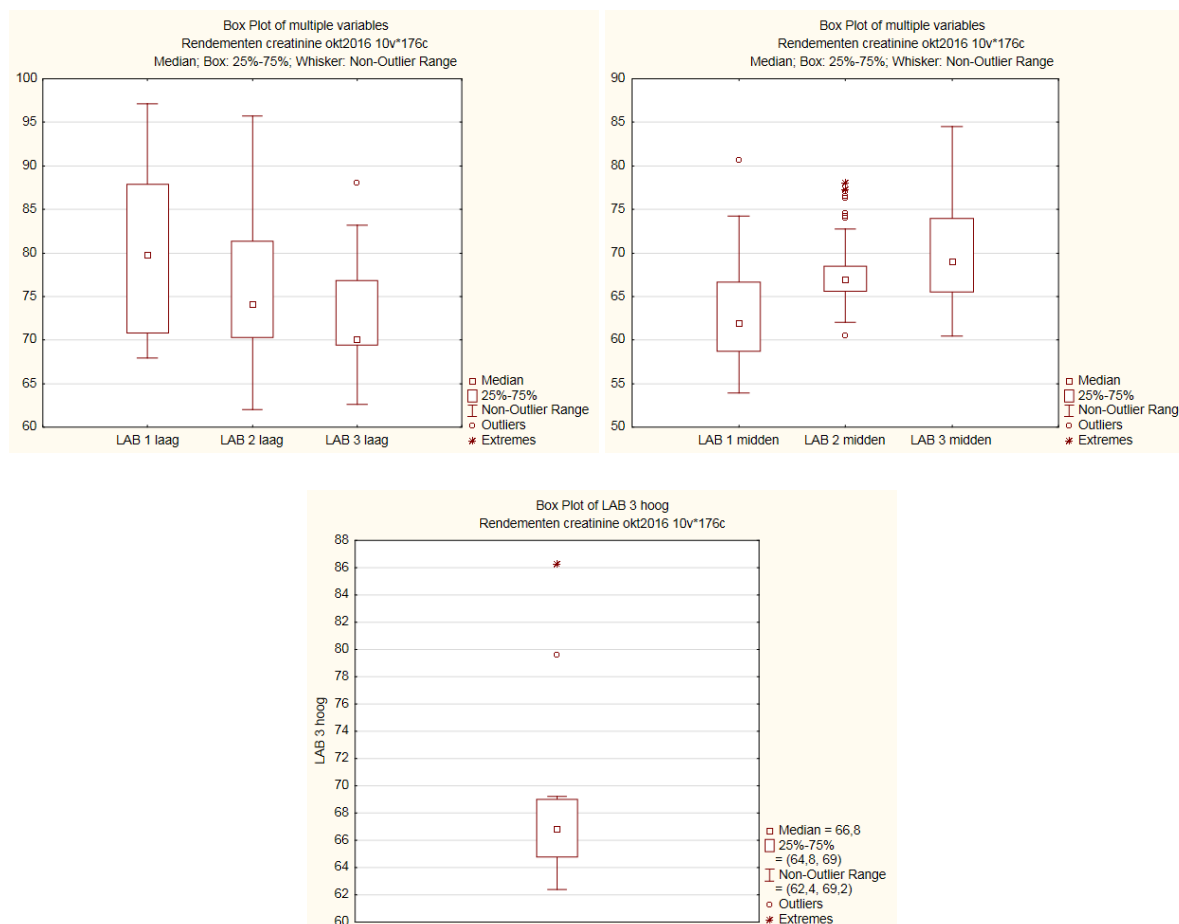
- LAB 1: $n = 15+30 = 45$
- LAB 2: $n = 88+88 = 176$
- LAB 3: $n = 15+15+15 = 45$

In Figuur 11 zijn de rendementen weergegeven voor creatinine voor de 3 erkende laboratoria waarbij alle resultaten (van de 3 meetgebieden) werden gebundeld.



Figuur 11 Rendement creatinine voor de kuvettentest

In Figuur 12 zijn de rendementen weergegeven in functie van het meetgebied.



Figuur 12 Rendement creatinine voor de kuvettentest opgesplitst i.f.v. meetgebied (laag/midden/hoog)

Er wordt afgesproken dat in WAC/III/D/032 voor de opvolging van de oxidatie-efficiëntie een creatinine standaard wordt gedefinieerd als onafhankelijke controle (en dus ter vervanging van nicotinamide of nicotinezuur standaard), en waarbij een minimaal rendement van 60 % wordt vooropgesteld (onafhankelijk van het meetgebied).

5.2. KWALITEITSCONTROLES OPGENOMEN IN DE WAC METHODEN

Op basis van de uitgevoerde studies en besprekingen in de LNE Werkgroep Water werden volgende kwaliteitscontroles en criteria opgenomen in de betreffende WAC methoden voor de bepaling van totaal N (in afvalwater).

WAC/III/D/032 Bepaling van het totaal stikstofgehalte na oxidatieve digestie met peroxodisulfaat

- Volgende kwaliteitscontroles komen hiervoor in aanmerking:
 - Blanco bepaling
 - Glycine, ammonium standaard of ureum om eventuele verliezen te traceren, waarbij het rendement $\geq 90\%$ is.

- o Creatinine standaard om de efficiëntie van de oxidatie op te volgen, waarbij het rendement $\geq 60\%$ is.

WAC/III/D/033 Bepaling van het totaal stikstofgehalte na oxidatie tot stikstofdioxiden

- De kalibratie oplossingen dienen minimaal te bestaan uit een mix van ammonium en nitraat
- Volgende kwaliteitscontroles komen hiervoor in aanmerking:
 - o Blanco bepaling
 - o Afzonderlijke meting van ammonium en nitraat, met berekening van de responsfactor (verhouding ammonium/nitraat), waarbij de toegelaten afwijking op de theoretische waarde van de individuele controlemonsters $\leq 10\%$ is en de responsfactor ≥ 0.9 en ≤ 1.1 bedraagt.
 - o Nicotinamide of nicotinezuur controlestandaard om de efficiëntie van de oxidatie op te volgen, waarbij het rendement $\geq 90\%$ is.

WAC/III/D/030 Bepaling van Kjeldahl-stikstof. Methode na mineralisatie met selenium

- Volgende kwaliteitscontroles komen hiervoor in aanmerking:
 - o Blanco bepaling
 - o Controle 1: Glycine, ammonium standaard of ureum om eventuele verliezen te traceren
 - o Controle 2: Nicotinamide of nicotinezuur standaard om de efficiëntie van de destructie op te volgen

Controle 1 en controle 2 zijn afzonderlijke controlemonsters en het rendement dient voor elke controle $\geq 90\%$.

HOOFDSTUK 6. BESLUIT

Voor de bepaling van totaal N in afvalwater zijn verschillende methoden opgenomen in het WAC compendium:

- NBN EN ISO 11905-1:1998 Water quality – Determination of nitrogen – Part 1: Method using oxidative digestion with peroxodisulfate (ISO 11905-1:1997) (WAC/III/D/032) (= Kuvettentest)
- ISO 29441:2010 Water quality – Determination of total nitrogen after UV digestion – Method using flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection
- NBN EN 12260:2003 Water quality – Determination of nitrogen – Determination of bound nitrogen (TNb), following oxidation to nitrogen dioxide (WAC/III/D/033) (= CLD methode)
- Som van Kjeldahl-N en nitriet en nitraat (TON= totaal geoxideerde stikstof = $\text{NO}_3 + \text{NO}_2$)

Waarbij in het verleden de meerderheid van de erkende laboratoria de sommethode (Kj-N + TON) toepaste, is er momenteel meer en meer een verschuiving naar de inzetbaarheid van de chemiluminescentie (CLD) methode (WAC/III/D/033). Deze techniek biedt heel wat voordelen naar automatisatie, gebruiksvriendelijkheid en snelheid van de analyse, waarbij bovendien de kwaliteit van de analyse geborgd kan blijven. Gezien de CLD techniek meer en meer aan belang wint, werd de praktische uitvoering van deze techniek bestudeerd en besproken binnen de LNE Werkgroep Water.

Als alternatief voor de sommethode wordt door een aantal erkende laboratoria de peroxodisulfaat methode toegepast via de kuvettentest met robot (WAC/III/D/032). Bij toepassing van de peroxodisulfaat methode (kuvettentest met robot) werden systematisch te lage resultaten vastgesteld t.o.v. de andere methoden voor de bepaling van totaal N in afvalwater. In overleg met de leverancier werd de oorzaak achterhaald (aanpassing tubing en spoelprocedure van het systeem) en werden acties ondernomen om dit probleem op te lossen. Controlemetingen en de organisatie van een proefronde hebben aangetoond dat het vastgestelde probleem is opgelost.

De vergelijkbaarheid van de diverse methoden voor de bepaling van totaal N in afvalwater werd geëvalueerd door de analyse van een 50-tal monsters (afval- en oppervlaktewater) met de verschillende technieken. Deze evaluatie werd uitgevoerd in samenwerking met het VMM labo. Bij de selectie van de diverse afvalstromen werden effluënten, influënten en zwaardere matrices geselecteerd. Een 20-tal monsters werden ad random gekozen, een 10-tal monsters zijn zwaarder beladen met zwevend stof (mixturen vereist) en een 10-tal stromen zijn afkomstig van voedingsindustrie (aanwezigheid eiwit). Bij de selectie van de oppervlaktewaters werden monsters geselecteerd rekening houdend met een lagere concentratie, zoutbelasting en deeltjes.

Bij het uitvoeren van vergelijkende totaal N metingen in oppervlaktewater (n=20) en afvalwater (n=39) met de verschillende methoden (chemiluminescentie, kuvettentest, sommethode Kj-N + TON) worden vergelijkbare resultaten bekomen. Niettegenstaande de geteste bepalingsmethodes de stikstof species omzetten naar een verschillende eind vorm (i.e., NO_3^- , NO_x , NH_4^+), zijn er geen systematische afwijkingen waarneembaar. Het differentiëren naar een moeilijk omzetbare N-verbinding, specifiek per methode, voor het opvolgen van het omzettingsrendement is hierbij belangrijk (bv. nicotinamide / Kj-N; creatinine / kuvettentest). De bekomen verschillen voor deze

monsters kunnen toegeschreven worden aan de normale meetspreiding die optreedt bij toepassing van verschillende methoden en bij uitvoering door verschillende laboratoria.

Tot slot werden de kwaliteitscontroles voor de verschillende methoden voor de bepaling van totaal N in afvalwater onder de loop genomen en alternatieven werden geëvalueerd. Op basis van de uitgevoerde metingen en besprekingen binnen de LNE Werkgroep Water werden de kwaliteitscontroles en criteria aangepast in de betreffende WAC methoden (zie §5.2 op pagina 22).

BIJLAGE A: STATISTISCHE EVALUATIE VAN DE VERGELIJKENDE ANALYSEN VAN DE AFVAL- EN OPPERVLAKTEWATERS

Matrix afvalwater

Verwerking MATLAB

```
>> median(AW_chv)
```

```
ans = 14.6700 18.5000 17.0500 16.9000
```

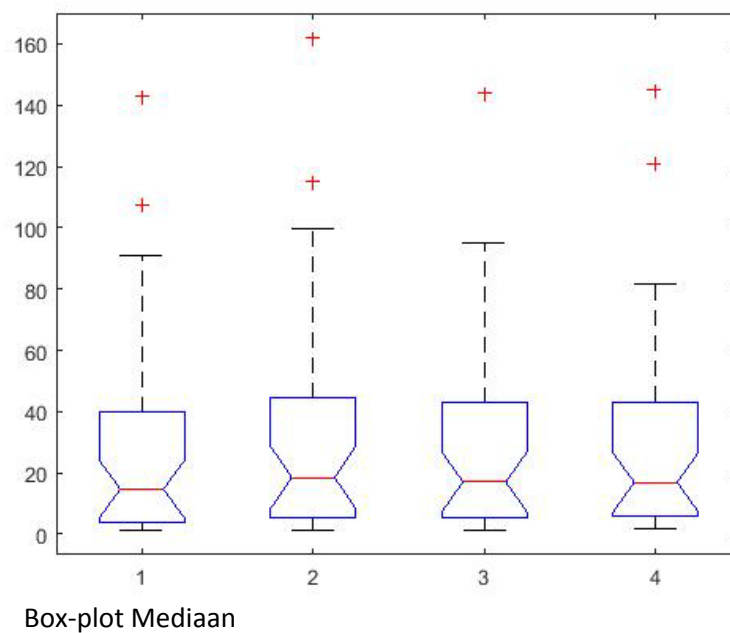
```
>> mean(AW_chv)
```

```
ans = 27.2692 30.9583 29.0631 29.8806
```

```
>> std(AW_chv)
```

```
ans = 32.2252 35.6804 32.0529 32.9515
```

ANOVA Table					
Source	SS	df	MS	F	Prob>F
Columns	261.6	3	87.21	0.08	0.9714
Error	154866.1	140	1106.19		
Total	155127.7	143			

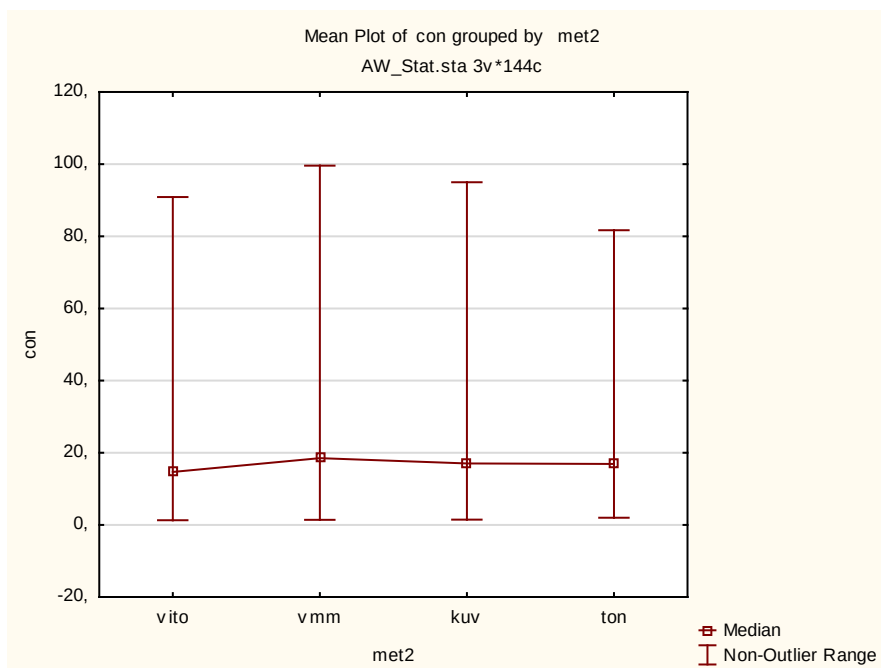


Verwerking MATLAB : geen significant verschil tussen methodes

Verwerking Statistica

Effect	Univariate Tests of Significance for con (AW_Stat.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	123561,6	1	123561,6	111,7006	0,000000
met	261,6	3	87,2	0,0788	0,971380
Error	154866,1	140	1106,2		

Verwerking Statistica : geen significant verschil tussen methodes (p=0.97)

**Statistica : t-test**

Afzonderlijke t-test tussen methode CLD LAB1 en CLA LAB2, Kuvettentest en sommethode (Kjeldahl+ TON)

	gem 1	gem 2	t-waarde	v	p	n1	n2	stdev1	stdev 2
CLD Lab1 vs CLD Lab2	27.269	30.958	-0.4603	70	0.6466	36	36	32.225	35.680
CLD Lab1 vs. Kuvettentest	27.269	29.063	-0.2368	70	0.8134	36	36	32.225	32.052
CLD Lab1 vs Kj-N+TON	27.269	29.880	-0.3399	70	0.7349	36	36	32.225	32.951

Geen verschil tussen methode CLD LAB1 en de andere methoden

Manuele verwerking : Link-Wallace (meervoudige vergelijking k populatiegemiddeldes)

$K = 1.16 < 1.25$: geen verschil tussen methoden ($\alpha = 0.01$)

Matrix oppervlaktewater

Verwerking Matlab

```
>> median(OW_chv)
```

```
ans = 3.8075 4.3500
```

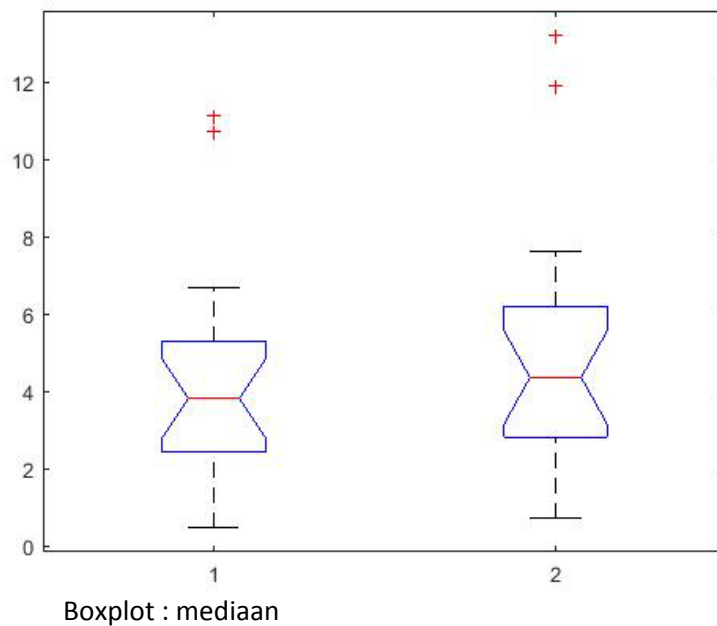
```
>> mean(OW_chv)
```

```
ans = 4.3052 4.9450
```

```
>> std(OW_chv)
```

```
ans = 2.7466 3.1475
```

ANOVA Table					
Source	SS	df	MS	F	Prob>F
Columns	4.093	1	4.09296	0.47	0.4976
Error	331.562	38	8.72533		
Total	335.655	39			

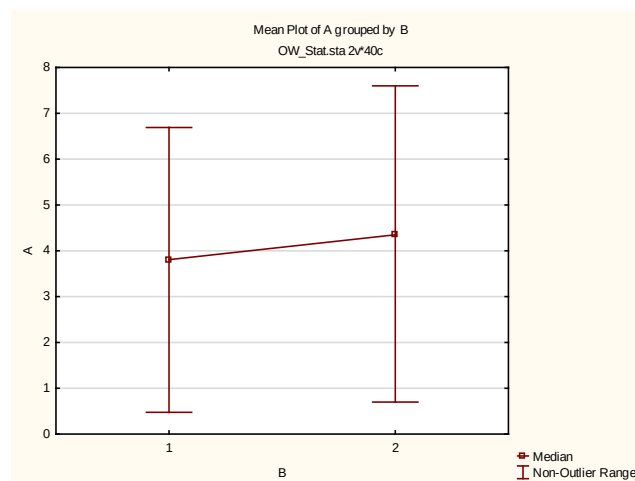


Verwerking Matlab : geen significant verschil tussen methoden

Verwerking Statistica : Anova

Effect	Univariate Tests of Significance for A (OW_Stat.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition; Std. Error of Estimate: 2,9539				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	855,6689	1	855,6689	98,06726	0,000000
B	4,0930	1	4,0930	0,46909	0,497563
Error	331,5624	38	8,7253		

Geen significant verschil tussen methoden (p : 0.4975)

**Statistica : t-test**

gem 1	gem 2	t-waarde	v	p	n1	n2	stdev1	stdev 2
4.305	4.9450	-0.6849	38	0,4975	20	20	2.746	3.1475

Geen verschil tussen de 2 methoden CLD LAB 1 en CLD LAB 2.

Manuele verwerking : Link-Wallace (meervoudige vergelijking k-populatiegemiddeldes)

$K = 1.58 < 1.72$: geen verschil tussen methoden ($\alpha = 0.01$).

LITERATUURLIJST

- ¹ Compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC), https://esites.vito.be/sites/reflabos/2016/Online%20documenten/WAC_III_D.pdf.
- ² M. Wevers, C. Vanhoof, L. Goetelen, A. Cluyts, E. Poelmans, W. Wouters, J. De Wit en K. Tirez, *Bepaling van het totaal stikstofgehalte in afvalwater*, VITO rapport 2012/MANT/R/7, januari 2012, https://esites.vito.be/sites/reflabos/onderzoeksrapporten/Online%20documenten/2011_bepaling_van_het_totaal_stikstofgehalte_in_afvalwater-finaal.pdf
- ³ C. Vanhoof, A. Cluyts, J. De Wit, E. Poelmans, W. Wouters en K. Tirez, *Interlaboratorium ringtest voor de bepaling van totaal N in afvalwater*, VITO rapport 2013/MANT/R/026, [https://esites.vito.be/sites/reflabos/onderzoeksrapporten/Online%20documenten/2012_Rapport_interlab_ringtest_totaal N in AW.pdf](https://esites.vito.be/sites/reflabos/onderzoeksrapporten/Online%20documenten/2012_Rapport_interlab_ringtest_totaal_N_in_AW.pdf)