

Bijlage 2. Het Compendium Bemonsterings- en Analysemethoden in het kader van het Mestdecreet (BAM)

VERWIJZINGSTABEL

Deel 1. – BODEM

Bodem – Toepassingsgebied	BAM/deel 1/00
Bodem – Bemonstering	BAM/deel 1/01
Bodem – Monstervoorbehandeling	BAM/deel 1/02
Bodem – Bepaling van het vochtgehalte – gravimetrische methode	BAM/deel 1/03
Bodem – Bepaling van nitraatstikstof	BAM/deel 1/04
Bodem – Bepaling van ammoniumstikstof	BAM/deel 1/07
Bodem – Bepaling van de fosfaatverzadigingsgraad	BAM/deel 1/08
Bodem – Schijnbaar soortelijk gewicht (dichtheid)	BAM/deel 1/09
Bodem – Bepaling van het organisch koolstofgehalte	BAM/deel 1/10
Bodem – Bepaling van fosfaat in grond extraheerbaar met een ammoniumlactaat-azijnzuurbuffer (P-AL)	BAM/deel 1/11
Bodem – Bepaling van snel vrijkomende organische stikstof	BAM/deel 1/12
Bodem – Rapportering	BAM/deel 1/20

Deel 2. – VEEVOEDER

Veevoeder – Toepassingsgebied	BAM/deel 2/00
Veevoeder – Bemonstering	BAM/deel 2/01
Veevoeder – Monstervoorbehandeling	BAM/deel 2/02
Veevoeder – Droge stof gehalte	BAM/deel 2/03
Veevoeder – Totale fosfor	BAM/deel 2/04
Veevoeder – Ruw eiwit	BAM/deel 2/05
Veevoeder – Rapportering	BAM/deel 2/20

Deel 3. – VLOEIBARE DIERLIJKE MEST

Vloeibare dierlijke mest – Toepassingsgebied	BAM/deel 3/00
Vloeibare dierlijke mest – Bemonstering	BAM/deel 3/01
Vloeibare dierlijke mest – Monstervoorbehandeling door homogeniseren	BAM/deel 3/02
Vloeibare dierlijke mest – Droge stof gehalte	BAM/deel 3/03
Vloeibare dierlijke mest – Totale fosfor	BAM/deel 3/04
Vloeibare dierlijke mest – Ammoniumstikstof	BAM/deel 3/05
Vloeibare dierlijke mest – Totale stikstof	BAM/deel 3/06
Vloeibare dierlijke mest – Rapportering	BAM/deel 3/20

Deel 4. – VASTE DIERLIJKE MEST

Vaste dierlijke mest – Toepassingsgebied	BAM/deel 4/00
Vaste dierlijke mest – Bemonstering	BAM/deel 4/01
Vaste dierlijke mest – Monstervoorbehandeling door mengen, drogen en malen – stapelbare mest	BAM/deel 4/02
Vaste dierlijke mest – Droge stof gehalte	BAM/deel 4/03
Vaste dierlijke mest – Totale fosfor	BAM/deel 4/04
Vaste dierlijke mest – Ammoniumstikstof	BAM/deel 4/05
Vaste dierlijke mest – Totale stikstof	BAM/deel 4/06
Vaste dierlijke mest – Rapportering	BAM/deel 4/20

Deel 7. – VERWERKTE MEST

Verwerkte mest – Toepassingsgebied	BAM/deel 7/00
Verwerkte mest – Bemonstering	BAM/deel 7/01
Verwerkte mest – Monstervoorbehandeling	BAM/deel 7/02
Verwerkte mest – Detectie van <i>Escherichia coli</i>	BAM/deel 7/03
Verwerkte mest – Detectie van <i>Enterococcaceae</i>	BAM/deel 7/04
Verwerkte mest – Detectie van <i>Salmonella</i>	BAM/deel 7/05
Verwerkte mest – Detectie van <i>Clostridium perfringens</i>	BAM/deel 7/06
Verwerkte mest – Rapportering	BAM/deel 7/20

BAM/DEEL 1/00 – BODEM – TOEPASSINGSGEBIED

De bemonsterings- en analysemethoden hebben betrekking op de volgende bodemonmonsternames en -analyses voorzien in het decreet van 22 december 2006 houdende de bescherming van water tegen verontreiniging door nitraten uit agrarische bronnen (hierna het Mestdecreet te noemen) en zijn uitvoeringsbesluiten :

- a. bodemonmonsternames voor de bepaling van de profielgemiddelde **fosfaatverzadigingsgraad**, het fosfaatbindend vermogen en het gehalte aan P-oxalaat in zure zandbodems (artikel 17, §5, en §6, van het Mestdecreet en besluit van de Vlaamse Regering van 31 maart 2000 tot aanwijzing van de gebiedsgerichte verscherpingen als vermeld in artikel 15bis, 15quater, 15quinquies en 17 van het decreet van 23 januari 1991 inzake de bescherming van het leefmilieu tegen de verontreiniging door meststoffen, zoals gewijzigd bij besluit van de Vlaamse Regering van 29 april 2005)
- b. bodemonmonsternames voor de bepaling van het **nitraatresidu** (artikel 14 en 15 van het Mestdecreet)
- c. bodemonmonsternames voor de bepaling van het **nitraatresidu in het kader van de beheersovereenkomsten water** (artikel 58, 9°, van het ministerieel besluit van 11 juni 2008 betreffende het sluiten van beheersovereenkomsten en het toekennen van vergoedingen ter uitvoering van Verordening (EG) nr. 1698/2005 van de Raad van 20 september 2005 inzake steun voor plattelandsontwikkeling – hierna het BO-besluit te noemen)
- d. bodemonmonsternames voor de bepaling van **ammoniumstikstof, nitraatstikstof, organische koolstof en plantbeschikbare fosfor op derogatiepercelen** (artikel 12 van het besluit van de Vlaamse Regering van 6 juni 2008 betreffende de derogatievoorwaarden inzake de bescherming van water tegen de verontreiniging door nitraten uit agrarische bronnen – hierna het Derogatiebesluit te noemen)
- e. bodemonmonsternames voor de bepaling van **ammoniumstikstof, nitraatstikstof en organische koolstof** met het oog op stikstofbemesting uit kunstmest na 1 september voor **tuinbouwteelten** (artikel 4, §4, van het besluit van de Vlaamse Regering van 10 oktober 2008 betreffende nadere regels rond tuinbouw ter uitvoering van het decreet van 22 december 2006 houdende de bescherming van water tegen de verontreiniging door nitraten uit agrarische bronnen – hierna het Tuinbouwbesluit te noemen)
- f. bodemonmonsternames voor de bepaling van **plantbeschikbare fosfor** met het oog op het opbrengen van **fosfaat uit kunstmest** (artikel 6 van het Tuinbouwbesluit)
- g. bodemonmonsternames voor de bepaling van **het nitraatresidu en organische koolstof** met het oog op het opbrengen van **compost** op percelen met een te laag koolstofgehalte (artikel 8 van het Tuinbouwbesluit).

Het uitvoerend laboratorium moet erop toe zien dat de bemonstering en analyse steeds volgens de hieronder beschreven methodologie gebeurt en draagt daarvoor ook de verantwoordelijkheid.

BAM/DEEL 1/01 – BODEM – BEMONSTERING

1 PRINCIPE

De bemonstering moet op een zodanige manier uitgevoerd worden dat een monster verkregen wordt dat representatief is voor het betreffende perceel.

De bemonsteringen hebben betrekking op percelen zoals gedefinieerd in het GBCS (Geïntegreerd Beheers- en Controlesysteem, als vermeld in artikel 2, 14°, van het decreet van 22 december 2006 tot inrichting van een gemeenschappelijke identificatie van landbouwers, exploitaties en landbouwgrond in het kader van het meststoffenbeleid en van het landbouwbeleid).

2 BEMONSTERINGSSTRATEGIE

Om voldoende garanties te bieden inzake representativiteit van de genomen monsters ten aanzien van de belanghebbende landbouwer enerzijds en ten aanzien van de toezichthoudende overheid anderzijds wordt het aantal deelmonsters, de bemonsteringsdiepte en de plaats van monsternamen van de deelmonsters eenduidig vastgelegd volgens een vooropgestelde bemonsteringsstrategie.

Bij de perceelsbemonstering wordt in principe geen rekening gehouden met vermoedens omtrent lokale variaties in de bemestingstoestand (heterogeniteit) van het perceel die het gevolg zouden kunnen zijn van afwijkende bemesting, verschillende voorgaande teelten, textuurverschillen, enz. In de volgende gevallen kan daarvan afgeweken worden :

- a. wanneer een kleikop wordt vastgesteld in een zandig perceel, dan moet die uitgesloten worden van bemonstering ter bepaling van de fosfaatverzadigingsgraad;
- b. extremiteiten zoals de toegang tot het perceel, drinkplaatsen, lokale schaduwrijke plaatsen, silo's, omgeving van kopakkeropslag worden vermeden tijdens de bemonstering;
- c. voor monsternamen en analyses in het kader van punt d, e en f zoals gespecificeerd in BAM/deel 1/00 die tevens tot doel hebben een bemestingsadvies te formuleren, is het toegestaan om het perceel op basis van lokale variaties t.g.v. bemesting, teelt, textuurverschil onder te verdelen in subpercelen en die afzonderlijk te bemonsteren en analyseren, voor zover dat nodig is om tot een gepast bemestingsadvies te komen.

Het uitvoerende laboratorium is ten allen tijde verantwoordelijk voor de correcte uitvoering en de representativiteit van de bodembemonstering.

2.1 Aantal bemonsteringen

Voor percelen tot 2 ha wordt het aantal monsternamenpunten vastgelegd op minimaal 15. Percelen groter dan 2 ha worden opgesplitst in subpercelen kleiner dan 2 ha. Per subperceel kleiner dan of gelijk aan 2 ha worden het aantal monsternamenpunten eveneens vastgelegd op minimaal 15. Per monsternamenpunt wordt een boring uitgevoerd.

Voor de bodembemonstering met het oog op het bepalen van het nitraatresidu (artikel 14 en 15 van het Mestdecreet, artikel 8, §1, 1°, van het Tuinbouwbesluit, artikel 58, 9°, van het BO-besluit) van groentepercelen waar band- of rijbemesting toegepast wordt, moeten er loodrecht op de rijrichting van de band- of rijbemesting, meerdere deelsteken per monsternamepunt genomen worden om de korte afstandsvariabiliteit te reduceren :

- a. Bodemlaag 0-30 cm : 5 deelsteken per monsternamepunt
 - b. Bodemlaag 30-60 cm : 3 deelsteken per monsternamepunt
 - c. Bodemlaag 60-90 cm : 1 deelsteek per monsternamepunt
- en dat volgens het patroon zoals beschreven onder punt 2.3.2. Wanneer er gedurende een jaar meerdere opeenvolgende teelten verbouwd worden op een perceel, moet deze bemonsteringsstrategie enkel toegepast worden indien band- of rijbemesting toegepast werd bij de laatste teelt.

Als er per perceel meerdere teelten aanwezig zijn, wordt het perceel opgesplitst in evenveel subpercelen als er teelten aanwezig zijn. Het aantal bemonsteringen per subperceel wordt vervolgens uitgevoerd zoals beschreven in bovenstaande paragraaf.

2.2 Bemonsteringsdiepte

2.2.1 Bemonstering tot op een diepte van 90 cm onder het maaiveld

De bodemmonsters moeten genomen worden tot op een diepte van 90 cm onder het maaiveld voor de bodembemonstering met het oog op :

- a. het bepalen van de **fosfaatverzadigingsgraad** (artikel 17, §5 en §6, van het Mestdecreet)
- b. het bepalen van het **nitraatresidu** (artikel 14 en 15 van het Mestdecreet, artikel 8, §1, 1°, van het Tuinbouwbesluit, artikel 58, 9°, van het BO-besluit)
- c. het bepalen van **ammoniumstikstof en nitraatstikstof op derogatiepercelen** (artikel 12, §3, van het Derogatiebesluit)
- d. het bepalen van de **ammoniumstikstof en nitraatstikstof op percelen met bepaalde tuinbouwteelten** zoals opgelijst in Tabel 1 met het oog op stikstofbemesting uit kunstmest na 1 september (artikel 4, §4, van het Tuinbouwbesluit).

Op elk van de monsternamepunten wordt per bodemlaag van 30 cm een bodemmonster genomen tot een diepte van 90 cm. De deelmonsters worden per bodemlaag van 30 cm samengevoegd tot 1 mengmonster per (sub)perceel van maximaal 2 ha (totaal 3 mengmonsters per (sub)perceel van 2 ha). Alle verzamelde bodemmateriaal wordt overgebracht naar het laboratorium (subbemonstering is niet toegestaan).

2.2.2 Bemonstering tot op een diepte van 6 cm onder het maaiveld

De bodemonsters moeten genomen worden tot op een diepte van 6 cm onder het maaiveld voor de bodembemonstering met het oog op het bepalen van de **plantbeschikbare fosfor van percelen met meerjarig grasland**

- a. onder **derogatie** (artikel 12, §2, van het Derogatiebesluit)
- b. voor het opbrengen van **fosfaat uit kunstmest** (artikel 6, §1, 4°, van het Tuinbouwbesluit).

De deelmonsters worden samengevoegd tot 1 mengmonster per (sub)perceel van maximaal 2 ha. Alle verzamelde bodemmateriaal wordt overgebracht naar het laboratorium (subbemonstering is niet toegestaan).

2.2.3 Bemonstering tot op een diepte van 23 cm onder het maaiveld

De bodemonsters moeten genomen worden tot een diepte van 23 cm onder het maaiveld voor de bodembemonstering met het oog op :

- a. het bepalen van de **plantbeschikbare fosfor van akkerlandpercelen onder derogatie** (artikel 12, §2, van het Derogatiebesluit)
- b. het bepalen van het **organisch koolstofgehalte van akkerlandpercelen** voor het opbrengen van **compost** op percelen met een te laag koolstofgehalte (artikel 8, §1, 2°, van het Tuinbouwbesluit).

De deelmonsters worden samengevoegd tot 1 mengmonster per (sub)perceel van maximaal 2 ha. Alle verzamelde bodemmateriaal wordt overgebracht naar het laboratorium (subbemonstering is niet toegestaan).

2.2.4 Bemonstering tot op een diepte van 23 tot 30 cm onder het maaiveld

De bodemonsters moeten genomen worden tot een diepte van 23 tot 30 cm onder het maaiveld voor de bodembemonstering met het oog op :

- a. het bepalen van de **plantbeschikbare fosfor van akkerlandpercelen** voor het opbrengen van **fosfaat uit kunstmest** (artikel 6, §1, 3°, van het Tuinbouwbesluit)
- b. het bepalen van het **organisch koolstofgehalte van percelen met bepaalde tuinbouwteelten** zoals opgelijst in Tabel 1 met het oog op stikstofbemesting uit kunstmest na 1 september (artikel 4, §4, 5°, e,) van het Tuinbouwbesluit).

De deelmonsters worden samengevoegd tot 1 mengmonster per (sub)perceel van maximaal 2 ha. Alle verzamelde bodemmateriaal wordt overgebracht naar het laboratorium (subbemonstering is niet toegestaan).

2.2.5 Bemonstering tot op een diepte van 30 cm onder het maaiveld

De bodemonsters moeten genomen worden tot een diepte van 30 cm onder het maaiveld voor de bodembemonstering met het oog op :

- a. het bepalen van het **organisch koolstofgehalte van derogatiepercelen** (artikel 12, §3, van het Derogatiebesluit)
- b. het bepalen van de **ammoniumstikstof en nitraatstikstof op percelen met bepaalde tuinbouwteelten** zoals opgelijst in Tabel 1 met het oog op stikstofbemesting uit kunstmest na 1 september (artikel 4, §4, van het Tuinbouwbesluit).

De deelmonsters worden samengevoegd tot 1 mengmonster per (sub)perceel van maximaal 2 ha. Alle verzamelde bodemmateriaal wordt overgebracht naar het laboratorium (subbemonstering is niet toegestaan).

2.2.6 Bemonstering tot op een diepte van 60 cm onder het maaiveld

Voor de bodembemonstering met het oog op het bepalen van de **ammoniumstikstof en nitraatstikstof op percelen met bepaalde tuinbouwteelten** zoals opgelijst in Tabel 1 met het oog op stikstofbemesting uit kunstmest na 1 september (artikel 4, §4, van het Tuinbouwbesluit) moeten de bodemmonsters genomen worden tot op een diepte van 60 cm onder het maaiveld. Op elk van de monsternamepunten wordt per bodemlaag van 30 cm een bodemmonster genomen tot een diepte van 60 cm. De deelmonsters worden per bodemlaag van 30 cm samengevoegd tot 1 mengmonster per (sub)perceel van maximaal 2 ha (totaal 2 mengmonsters per (sub)perceel van 2 ha). Alle verzamelde bodemmateriaal wordt overgebracht naar het laboratorium (subbemonstering is niet toegestaan).

Tabel 1 geeft een overzicht van de vereiste bemonsteringsdieptes naargelang het doel van de bodemmonstername en –analyse.

Tabel 1 Overzicht van de bemonsteringsdieptes

DOEL VAN DE BODEMBEMONSTERING		LAAG 1	LAAG 2	LAAG 3
Uitzonderingen voor niet-fosfaatverzadigde percelen gelegen in fosfaatverzadigde gebieden (bepaling van de profielgemiddelde fosfaatverzadigingsgraad, het fosfaatbindend vermogen en het gehalte aan P-oxalaat in zure zandbodems)		0-30 cm	30-60 cm	60-90 cm
Nitraatresidubepaling		0-30 cm	30-60 cm	60-90 cm
Derogatiestaalnames				
bepaling van ammonium- en nitraatstikstof		0-30 cm	30-60 cm	60-90 cm
bepaling van organische koolstof		0-30 cm		
bepaling van plantbeschikbare fosfor				
Grasland		0-6 cm		
Akkerland		0-23 cm		
Stikstofbemesting uit kunstmest na 1 september voor tuinbouwteelten				
bepaling van ammonium- en nitraatstikstof voor de teelten : aardbeien, chrysanten, courgettes, ijsbergsla, kruiden, peterselle, radijs, raketsla, sla, snijbloemen, snijplanten, spinazie, veldsla, vroege bladgroenten, vroege uien, winterbloeiende halfheesters		0-30 cm		
bepaling van ammonium- en nitraatstikstof voor de teelten : andijvie, bladselder, bleekselder, bloemkool, boerenkool, bonen, broccoli, Chinese kool, doperwtten, erwten, graszoden, groene selder, knolselder, knolvenkel, koolraap, koolrabi, prei, rode biet, rode kool, savooikool, stamslabonen, venkel, vroege aardappelen, vroege wortelen, witte kool, wortelen		0-30 cm	30-60 cm	
bepaling van ammonium- en nitraatstikstof voor de teelten : schorseneren, spruitkool, witlof		0-30 cm	30-60 cm	60-90 cm
bepaling van organisch koolstofgehalte		0-23/30 cm		
Fosforbemesting uit kunstmest				
bepaling van de plantbeschikbare fosfor op meerjarig grasland		0-6 cm		
bepaling van de plantbeschikbare fosfor op akkerland		0-23/30 cm		
Opbrengen van compost op percelen met een te laag koolstofgehalte				
bepaling van de nitraatstikstof		0-30 cm	30-60 cm	60-90 cm
bepaling van het organisch koolstofgehalte		0-23 cm		

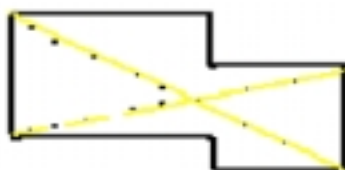
2.3 Bemonsteringspatroon

Om randeffecten te vermijden moeten de bodemonsters steeds op een afstand van minstens 5 meter van de perceelsranden genomen worden.

2.3.1 Voor akkerbouwpercelen en graslanden

Percelen worden bemonsterd in kruisverband. Bemonstering in zig-zag verband is enkel toegestaan in uitzonderlijke gevallen voor lang uitgerekte, smalle percelen (dat zijn percelen met een breedte van 30 m of minder en waarvan de lengte meer dan 3 maal de breedte bedraagt) of percelen met een heel onregelmatige vorm.

Bemonstering volgens kruisverband (zie Figuur 1) gebeurt volgens de diagonalen van het perceel. De afstand tussen 2 monsternamenpunten wordt bepaald zodat het aantal bemonsteringen gerespecteerd blijft.



Figuur 1 Bemonstering volgens kruisverband

Figuur 2 geeft een voorbeeld van een zig-zag bemonstering op lang uitgerekte, smalle percelen of percelen met een heel onregelmatige vorm.



Figuur 2 Bemonstering volgens zig-zag patroon

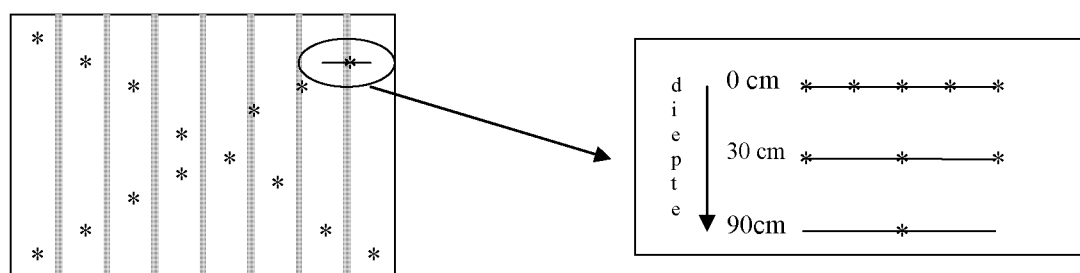
2.3.2 Voor groentepercelen

Voor de bodembemonstering met het oog op het bepalen van het nitraatresidu (artikel 14 en 15 van het Mestdecreet, artikel 8, §1, 1°, van het Tuinbouwbesluit, artikel 58, 9°, van het BO-besluit) van groentepercelen waar band of rijbemesting toegepast wordt, geldt een specifiek bemonsteringspatroon.

Bij groentepercelen waar gebruik gemaakt wordt van band- of rijbemesting is de ruimtelijke variabiliteit van de nitraatconcentratie verschillend ten overstaan van die van de akkerbouw waar breedwerpig wordt bemest. Bij band- of rijbemesting wordt een bijkomende ruimtelijke variabiliteit geïntroduceerd waarbij een verhoogde nitraatconcentratie in de bemeste zone (grootte-orde 1 à 20 cm) versus de niet bemeste zone (grootte-orde 30 à 80 cm) wordt verwacht.

De monsternamepunten worden geselecteerd in een kruisverband. Per monsternamepunt moeten er loodrecht op de rijrichting van de band- of rijbemesting, meerdere deelsteken per monsternamepunt genomen worden om de korte afstandsvariabiliteit te reduceren en dat volgens het volgende patroon (Figuur 3) :

- Bodemlaag 0-30 cm : 5 deelsteken per monsternamepunt (deelsteken om de 20 cm)
- Bodemlaag 30-60 cm : 3 deelsteken per monsternamepunt (deelsteken om de 40 cm)
- Bodemlaag 60-90 cm : 1 deelsteek per monsternamepunt (midden)



Figuur 3 Bemonstering band- of rijbemeste groentepercelen

3 MATERIAAL

- grondboor van het type guts met een nuttige lengte van in voorkomend geval 6, 23 of 30 cm voor de bemonstering van de bodemlaag 0-6 cm, 0-23 cm en 0-30 cm respectievelijk (afhankelijk van de vereiste diepte zoals bepaald in punt 2.2). Voor de bemonstering met het oog op het bepalen van het nitraatresidu (artikel 14 en 15 van het Mestdecreet, artikel 8, §1, 1°, van het Tuinbouwbesluit, artikel 58, 9°, van het BO-besluit) is gebruik van een boor met een binnendiameter van 20 mm verplicht voor de bemonstering van de bodemlaag 0-30 cm. Voor de bemonstering van grasland tot een diepte van 6 cm mag gebruik gemaakt worden van specifieke graslandboren (conische boorpijp met een nuttige lengte van 6 cm met daarboven een verzamelbakje).

- b. grondboor van het type guts met een binnendiameter van 13 mm en een totale steekdiepte van minimaal 1 m voor de bemonstering van de bodemlagen 30-60 cm en 60-90 cm. De nuttige lengte van de guts bedraagt minstens 30 cm. Een nuttige lengte van 60 cm, zodat beide lagen in één beweging kunnen worden bemonsterd, is eveneens toegestaan. Op de steekstang van de guts worden markeringen aangebracht op 60 en 90 cm zodat de steekdiepte gemakkelijk kan worden geverifieerd. De boor is, voor moeilijk te bemonsteren percelen, voorzien van een slagkop zodanig dat die, indien nodig, met een houten of kunststof hamer in de bodem gedreven kan worden.
- c. grondboor van het type guts met een nuttige lengte van 90 cm zodat de bodemlagen 0-30, 30-60 en 60-90 cm in één beweging kunnen worden bemonsterd, is eveneens toegestaan. Op de steekstang van de guts worden markeringen aangebracht op 30, 60 en 90 cm zodat de steekdiepte gemakkelijk kan worden geverifieerd. De boor is, voor moeilijk te bemonsteren percelen, voorzien van een slagkop zodanig dat die, indien nodig, met een houten of kunststof hamer in de bodem gedreven kan worden. Indien deze boren ingezet worden voor de bemonstering met het oog op het bepalen van het nitraatresidu (artikel 14 en 15 van het Mestdecreet, artikel 8, §1, 1°, van het Tuinbouwbesluit, artikel 58, 9°, van het BO-besluit) moet deze boor een binnendiameter van 20 mm hebben.
- d. in geval van ammoniumstikstof- en nitraatstikstofbepaling moeten voldoende grote, stevige plastic zakken voorzien worden om daarin de deelmonsters per vereiste bodemlaag te verzamelen. Voor de bepaling van koolstof, plantbeschikbare fosfor en fosfaatverzadigingsgraad mogen de monsters eveneens verzameld worden in andere daartoe geschikte recipiënten.



Figuur 4 Grondboor type guts

4 PRAKTISCHE UITVOERING

4.1 Algemeen

De steekboringen worden uitgevoerd volgens het gekozen bemonsteringspatroon. De grond wordt ter plaatse lichtjes vast getrapt op en rond de plaats waar de boring zal plaatsvinden. Op die plaats de boor loodrecht t.o.v. het maaiveld in de grond duwen tot de guts volledig gevuld is (in voorkomend geval 6, 23 of 30 cm). De gutsboor minstens 1 maal volledig ronddraaien om de boor los te maken en vervolgens langzaam omhoogtrekken. Hierbij is het belangrijk geen grondverlies te hebben. Met de spatel wordt de grond uit de boor geschoven en aangebracht in het recipiënt voor de desbetreffende bodemlaag van 0-6, 0-23 of 0-30 cm.

In hetzelfde boorgat worden in voorkomend geval ook de lagen 30-60 en 60-90 cm bemonsterd. De bemonsteringsdiepte wordt aangegeven door de markeerstrepen op de boorstang. Men zorgt ervoor de steekboor voorzichtig in het boorgat te brengen zodat geen ondiepe losse grond in het boorgat terecht komt. Evenwel, om onderlinge vermenging van de verschillende bodemlagen te voorkomen wordt bij bemonstering van laag 2 en 3, wanneer die afzonderlijk bemonsterd worden, de bovenste 2 cm uit de guts met een spatel verwijderd omdat dit toch meestal losse grond is van de ondiepere bodemlaag. Wanneer de lagen 30-60 en 60-90 cm bemonsterd worden in één beweging met een gutsboor met een nuttige lengte van 60 cm, moet alleen de bovenste 2 cm uit de guts, voor de laag 30-60 cm, verwijderd worden. De steekmonsters van de 30-60 cm en van 60-90 cm laag worden uit de boor geschoven in de overeenkomstige recipiënten.

Wanneer de lagen 30-60 en 60-90 cm bemonsterd worden in één beweging samen met de laag 0-30 cm met een gutsboor met een nuttige lengte van 90 cm treedt er geen vermenging van de verschillende lagen op en moet de 2 cm voor de diepere lagen niet verwijderd worden. De steekmonsters van de 0-30, 30-60 cm en 60-90 cm laag worden uit de boor geschoven in de overeenkomstige recipiënten.

Tussen twee boringen wordt de boor (steekstang, binnenzijde en buitenzijde van de guts) schoon geschrapt met de spatel om achterblijvende bodemresten te verwijderen.

Het volledige bodemonster van iedere laag wordt rechtstreeks in het daartoe voorziene recipiënt verzameld en in zijn geheel meegenomen. In geval van ammoniumstikstof- en nitraatstikstofbepaling wordt het bodemonster strak in de plastic zak gedraaid. De verdere bewerkingen kunnen dan in het laboratorium worden uitgevoerd.

In het geval er veel bodemmateriaal verzameld moet worden (zoals voor de bemonstering van de laag 0-30 en 30-60 cm bij band- of rijbemeste groentepercelen) kunnen meerdere recipiënten per laag voorzien worden. Voor de laag 0-30 cm (met 5 deelsteken per monsternamepunt) worden 4 recipiënten, voor iedere 'arm' van het kruis, voorzien. Voor de laag 30-60 cm (met 3 deelsteken per monsternamepunt) worden 2 recipiënten, voor iedere diagonaal, voorzien. Het aantal recipiënten mag gereduceerd worden indien het monster onmiddellijk na monstername wordt geanalyseerd en het laboratorium voorzien is van de nodige mechanische homogenisatietoestellen.

4.2 Opmerkingen :

4.2.1 Moeilijk te bemonsteren percelen

- a. Percelen met ondoordringbare horizont (grint, ijzeroer)
- b. Percelen met hoge grondwaterstand

De monsternemer wordt verondersteld het maximaal mogelijke te doen om toch te bemonsteren tot de vereiste diepte zoals bepaald in punt 2.2. Dit houdt in alle geval in dat wanneer niet manueel tot de vereiste diepte geboord kan worden, gebruik gemaakt wordt van een slaghamer om de boor voldoende diep in de bodem te drijven. Wanneer onmogelijk over de volledige vereiste diepte kan worden bemonsterd, moet dat op het verslag toegelicht worden (bijvoorbeeld kiezellaag op 50 cm, grondwater op 40 cm onder het maaiveld). De bemonsteringsdiepte moet expliciet worden vermeld aangezien dat een noodzakelijk gegeven is voor de berekening van de resultaten.

4.2.2 Niet te bemonsteren percelen

De laboratoria houden een lijst van de percelen bij waar een bemonstering door de landbouwer of de bevoegde overheid is gevraagd maar door fysieke omstandigheden niet is kunnen doorgaan (bijvoorbeeld omdat het perceel onder water stond).

4.2.3 Bemonstering van beteelde percelen

Er moet hier bijzondere aandacht gaan naar de representatieve boring. Er moet een evenredig aantal boringen uitgevoerd worden zowel tussen de plantrijen als in de plantrijen. Er moet op toegezien worden dat alleen bodem meegenomen wordt en geen gewas.

Bij fruitplantages moet de helft van de deelmonsters worden genomen in de groene strook en de andere helft in de zwarte strook.

4.2.4 Bemonstering van omgewoelde percelen

Vermijd de extreme hoogtes en dieptes. Beperk aandrukken en egaliseren indien mogelijk. Vermeld de toestand van het perceel in het analyseverslag.

5 IDENTIFICATIE VAN DE MONSTERS

Elk recipiënt draagt een uniek nummer, codering of verwijzing zodat achteraf geen misverstanden kunnen ontstaan m.b.t. de herkomst van de monsters.

De volgende informatie moet minimaal op de recipiënten of op een begeleidend formulier aanwezig zijn :

- a. opdrachtgever
- b. naam van de monsternemer
- c. plaats en datum van monstername
- d. diepte bodemlaag (nrs 1, 2, 3); onvolledige bemonstering van een laag moet worden vermeld samen met de totale bemonsteringsdiepte
- e. uit te voeren analyses

Voor de bemonstering van percelen waarvoor een unieke perceelsidentificatie bij rapportering vereist is bepaald volgens BAM/deel 1/20 moeten ook de volgende gegevens op het recipiënt of op een begeleidend formulier aanwezig zijn :

- a. landbouwnummer van de gebruiker van het perceel zoals gedefinieerd in het GBCS en
- b. het perceelsnummer van het betreffende perceel zoals gedefinieerd in het GBCS voor het jaar van monstername en zoals vermeld op de verzamelaanvraag van de betreffende landbouwer van het betreffende jaar.

Het monsterbeheersysteem van het laboratorium moet toelaten om achteraf iedere informatie met betrekking tot een individueel monster éénduidig te traceren. Indien zich uitzonderlijke omstandigheden voordoen moet dat worden vermeld.

6 MONSTERCONSERVERING TIJDENS HET TRANSPORT

Om verlies van ammoniakale-N of microbiologische omzettingen zoveel mogelijk te vermijden, moet in geval van bepaling van ammoniumstikstof en nitraatstikstof stijging van de monstertemperatuur tegengegaan worden.

Onmiddellijk na de monstername wordt het monster daartoe gekoeld bewaard in een koelbox, in afwachting van en tijdens transport naar de monsteropslagplaats of het laboratorium.

In geval van ammoniumstikstof en nitraatstikstof bepaling moet het monster binnen de 72 uur na monstername afgeleverd worden aan het laboratorium. Gedurende die tijd moet het monster koel bewaard worden bij een temperatuur van maximum 4°C. Indien het monster niet kan worden afgeleverd binnen de 72 uur moet het volledige bodemonster onmiddellijk (binnen de 24 uur) worden diepgevroren bij minstens -18°C.

Voor de bepaling van koolstof, plantbeschikbare fosfor en fosfaatverzadigingsgraad volstaat een bewaring bij kamertemperatuur.

BAM/DEEL 1/02 – BODEM – MONSTERVERVOORBEHANDELING

1 PRINCIPE

De bewaring en de voorbereiding van bodemonsters is van groot belang. Ze is erop gericht om verliezen door vervluchtiging (ammoniak) of omzettingen te minimaliseren.

Voor de bepaling van ammoniumstikstof en nitraatstikstof mag het monster niet gedroogd worden omdat dit aanleiding kan geven tot verliezen door vervluchtiging en omzettingen en moet de bepaling uitgevoerd worden op veldvochtige bodem. Het nemen van een representatief submonster zal kritisch zijn.

Voor de bepaling van organische koolstof, plantbeschikbare fosfor en fosfaatverzadigingsgraad moet het monster onder gecontroleerde omstandigheden gedroogd worden.

2 BEWARING VAN HET BODEMMONSTER VOOR ANALYSE

- a. Om omzettingen in de bodemonsters te vermijden, moeten die in geval van ammoniumstikstof- en nitraatstikstofbepaling altijd koel bewaard worden (bij een temperatuur van maximum 4°C).
- b. In het geval van ammoniumstikstof- en nitraatstikstof bepaling moet het bodemmonster ten laatste 72 uur na monsternamen in bewerking genomen worden voor analyse. Als dat niet mogelijk is, moet het volledige bodemmonster onmiddellijk (binnen de 24 uur) en zonder dat het verdere bewerkingen ondergaat diepgevroren worden bij minstens -18°C tot wanneer het in bewerking genomen kan worden.
- c. In het geval van organische koolstof, plantbeschikbare fosfor en fosfaatverzadiging bepaling mogen de monsters in het laboratorium maximaal 5 dagen bij kamertemperatuur bewaard worden vooraleer in bewerking te worden genomen.

3 VOORBEREIDING VOOR DE BEPALING VAN AMMONIUM- EN NITRAATSTIKSTOF OP VELDVUCHTIGE BODEM

De bepaling van ammoniumstikstof en nitraatstikstof moet op veldvochtig bodemmonster uitgevoerd worden. Hiertoe wordt het volledige (veldvochtige of na diepvriezen ontdooide) bodemmonster gehomogeniseerd.

Bij diepgevroren bodemonsters, moet het ontdooiproces zowel qua duur als qua temperatuur onder gecontroleerde omstandigheden uitgevoerd worden. De monsters worden daartoe de avond voor ze in bewerking genomen worden in een koelkast of koelruimte ontdooit bij een temperatuur van maximum 4°C. De homogenisatie van het bodemmonster kan uitgevoerd worden op het deels ontdooide monster, mits een goede menging op dat moment mogelijk is.

Het volledige veldvochtige/ontdooide monster wordt in bewerking genomen. Eerst worden plantresten en steentjes zoveel mogelijk verwijderd. Vervolgens moet het volledige monster grondig gehomogeniseerd worden. Homogeniseren gebeurt door het volledige monster grondig te mengen, hetzij manueel hetzij mechanisch met daartoe geschikte mengtoestellen, zodanig dat de bodemaggregaten worden verkleind in deeltjes kleiner dan 5 mm. Vervolgens wordt een representatief deelmonster genomen door manuele of mechanische deelbemonstering.

Manuele deelbemonstering (verdelen in kwartieren) : Na grondig mengen (manueel of mechanisch) en verkleinen wordt de bodem in een dunne laag uitgespreid. Dit moet op een zuivere ondergrond gebeuren om contaminatie te minimaliseren. Verdeel de bodem in 4 gelijke delen. De 2 diagonale porties worden terug samengevoegd. Herhaal die werkwijze tot de gewenste monsterhoeveelheid is bereikt.

Mechanische deelbemonstering : De deelbemonstering wordt uitgevoerd met een daartoe geschikte monsterverdeler.

Wanneer meerdere bodemmonsters per laag verzameld werden voor de bemonstering van de laag 0-30 en 30-60 cm bij band- of rijbemeste groentepercelen, worden de bodemmonsters eerst afzonderlijk gehomogeniseerd en wordt per afzonderlijk bodemmonster een deelmonster genomen zoals hierboven beschreven. Vervolgens worden de deelmonsters per laag samengevoegd, grondig gemengd en wordt van dat mengmonster een representatief deelmonster genomen zoals hierboven beschreven.

4 VOORBEREIDING VOOR DE BEPALING VAN ORGANISCHE KOOLSTOF, PLANTBESCHIKBARE FOSFOR EN FOSFAATVERZADIGING OP VOORGEDROOGDE BODEM

Indien ammoniumstikstof of nitraatstikstof bepaald moet worden, moet een representatief deel van het veldvochtige monster behouden blijven voor de analyse van die parameters en voor de bepaling van het vochtgehalte van de veldvochtige bodem. In het andere geval kan het gehele monster in bewerking genomen worden.

Voor de bepaling van organische koolstof, plantbeschikbare fosfor en fosfaatverzadiging wordt het monster hetzij gedroogd aan de lucht, hetzij onder gecontroleerde omstandigheden.

Drogen onder gecontroleerde omstandigheden houdt in dat het drogen gebeurt in een droogstoof met geforceerde luchtcirculatie/ventilatie, bij een temperatuur van maximaal 45°C gedurende maximaal 48u tot wanneer het restvochtgehalte van de gedroogde bodem maximaal 1.5% bedraagt.

Na droging wordt het monster gebroken en vervolgens gezeefd op 2 mm. Alleen de gezeefde bodem, vrij van steentjes, plantenresten, e.d. wordt gebruikt voor verdere analyse.

BAM/DEEL 1/03 – BODEM – BEPALING VAN HET VOCHTGEHALTE – GRAVIMETRISCHE METHODE

1 TOEPASSINGSGEBIED

Het vochtgehalte moet bepaald worden om de omrekening naar droge stof mogelijk te maken. In die procedure kan zowel vertrokken worden van :

- a. veldvochtige bodem (zie BAM/deel 1/02 punt 3), resulterend in w_{H_2O} in veldvochtige bodem
- b. van bodem na droging bij 45°C (zie BAM/deel 1/02 punt 4), resulterend in w_{H_2O} in voorgedroogde bodem

2 OPMERKING

In principe moet voor ieder luchtdroog monster het restvochtgehalte worden bepaald volgens die methode. De bepaling van het restvochtgehalte mag achterwege worden gelaten indien een laboratorium kan aantonen dat het restvochtgehalte steeds lager is dan 1.5 %. Het restvocht moet steekproefsgewijze gemeten worden op 1% van de analyses.

Voor sommige toepassingen kan het echter nog steeds noodzakelijk zijn om toch het restvochtgehalte te bepalen. In zo'n geval wordt dat expliciet vermeld.

3 PRINCIPE

Bodemmonsters worden gedroogd bij $105 \pm 5^\circ\text{C}$ tot constant gewicht.

4 MATERIAAL

- 4.1 Droogstoof ingesteld op een temperatuur van $105 \pm 5^\circ\text{C}$
- 4.2 Droogkroezen of –schalen
- 4.3 Exsiccator
- 4.4 Balans met een nauwkeurigheid van 1 mg

5 WERKWIJZE

- a. De droogkroezen worden voorbehandeld door ze te drogen bij $105 \pm 5^\circ\text{C}$ en ze te laten afkoelen in de exsiccator.
- b. Het lege kroesje wordt gewogen : m_0
- c. Breng 10 tot 15 g veldvochtige bodem (of voorgedroogde bodem) in de kroes en weeg opnieuw : m_1 (of m_1')
- d. Breng de kroes met monster in de voorverwarmde droogstoof bij een temperatuur van $105 \pm 5^\circ\text{C}$ en droog tot constant gewicht.
- e. Kroes uit de droogstoof nemen en laten afkoelen tot omgevingstemperatuur in de exsiccator.

f. Weeg opnieuw tot op 1 mg nauwkeurig : m_2 (of $m_{2'}$)

6 BEREKENING

6.1 Berekeningswijze voor veldvochtige bodem

$$W_{H_2O} \text{ in veldvochtige bodem} = \frac{m_1 - m_2}{m_2 - m_0} \times 100$$

met

w_{H_2O} in veldvochtige bodem vochtgehalte op droog materiaal in % (m/m) bepaald
op veldvochtige bodem tot op 1 cijfer na de komma
nauwkeurig

m_0 massa lege kroes in g

m_1 massa kroes en veldvochtig monster in g

m_2 massa kroes en droog monster (105°C) in g

6.2 Berekeningswijze voor voorgedroogde bodem

$$W_{H_2O} \text{ in voorgedroogde bodem} = \frac{m_{1'} - m_{2'}}{m_{2'} - m_0} \times 100$$

met

w_{H_2O} in voorgedroogde bodem vochtgehalte op droog materiaal in % (m/m) bepaald
op voorgedroogde (45°C) bodem (i.e. restvocht), tot
op 1 cijfer na de komma nauwkeurig

m_0 massa lege kroes in g

$m_{1'}$ massa kroes en voorgedroogd (45°C) monster in g

$m_{2'}$ massa kroes en droog monster (105°C) in g

Opmerking : ISO 11465 drukt het vochtgehalte uit als de verhouding van water op droog materiaal. Om de omrekening van vochtig naar droog monster bij de volgende procedures correct uit te voeren moet die berekeningswijze gevolgd worden.

7 REFERENTIE

ISO 11465 :1993 Soil quality - Determination of dry matter and water content on a mass basis - Gravimetric method

BAM/DEEL 1/04 – BODEM – BEPALING VAN NITRAATSTIKSTOF

1 PRINCIPE

Voor de bepaling van nitraatstikstof in de bodem moet er een extractie worden uitgevoerd met kaliumchloride (KCl). Aangezien bij het drogen van bodemonsters fouten kunnen optreden door omzettingen, moet die extractie gebeuren op het veldvochtige monster. De extractieprocedure is analoog aan die, beschreven in ISO 14256. De bepaling van de nitraatstikstof concentratie in het extract gebeurt spectrofotometrisch (hetzij manueel of geautomatiseerd). De concentraties worden omgerekend naar droge stof. Hiertoe wordt het vochtgehalte in het bodemonster bepaald zoals beschreven in BAM/deel 1/03.

Met die methode moet het mogelijk zijn om een hoeveelheid van 90 kg NO_3^- -N/ha te bepalen. Voor een bemonsteringsdiepte van 90 cm en een dichtheid van de bodem van 1450 kg/m³ komt dat overeen met 1.4 mg N/l in het extract. De spectrofotometrische bepalingsmethode moet dus gevoelig genoeg zijn om lage concentraties nauwkeurig te meten.

2 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering van de bodem gebeurt in lagen van 30 cm. De bepaling van nitraatstikstof gebeurt in iedere laag afzonderlijk. Uiteindelijk worden in voorkomend geval de resultaten van de verschillende lagen gecombineerd tot een totale hoeveelheid over de volledige bemonsterde diepte.

Voor de uitvoering van de bemonstering wordt verwezen BAM/deel 1/01. De voorbehandeling gebeurt volgens BAM/deel 1/02.

3 EXTRACTIEPROCEDURE

3.1 Apparatuur en materiaal

- 3.1.1 Lineair schudtoestel of overkopmenger
- 3.1.2 Balans met een nauwkeurigheid van 10 mg.

3.2 Reagentia

- 3.2.1 Kaliumchloride-oplossing, 1 mol/l : 74.6 g/l KCl in water

3.3 Werkwijze voor veldvochtige bodem

- a. Weeg 40 g veldvochtig gehomogeniseerd monster af tot op 0.1 g nauwkeurig in een recipiënt : m
- b. Voeg 200 ml KCl oplossing toe
- c. Schudden gedurende 1h bij constante temperatuur ($20 \pm 2^\circ\text{C}$)

- d. Het extract wordt gecentrifugeerd of gefiltreerd. Spoel de filter voor met KCl oplossing alvorens het extract te filtreren. Vang het overige filtraat op in een droog recipiënt.

4 BEPALING VAN NITRAATSTIKSTOF IN EXTRACTEN

Na extractie met KCl moeten de relevante stikstof fracties onmiddellijk bepaald worden, of ten laatste 1 dag na de extractie. Als dat niet mogelijk is, kunnen de extracten bewaard worden in de koelkast bij temperaturen lager dan 4°C voor maximum 1 week of, indien nodig, ingevroren worden bij minstens – 18°C.

De volgende spectrofotometrische analysemethoden kunnen toegepast worden voor de bepaling van nitraat in bodem :

- ISO/TS 14256-1 :2003 Soil quality - Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution - Part 1 : Manual method.
- ISO 14256-2 :2005 Soil quality - Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution - Part 2 : Automated method with segmented flow analysis.
- NBN EN ISO 13395 :1996 Waterkwaliteit - Bepaling van nitrietstikstof en van nitraatstikstof en van de som van beide door stroomanalyse (CFA en FIA) en spectrometrische detectie.
- NEN 6604 :2007 Water - Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie.

Voor de uitvoering van de analyse wordt verwezen naar bovenstaande normmethoden.

5 BEREKENINGSWIJZE VOOR VELDVOCHTIGE BODEM

De verkregen nitraatstikstof concentratie wordt omgerekend naar een concentratie C_N (mg N/kg) in droog monster met de volgende formule :

$$C_N = C_1 \times \left[\frac{V_{ext}}{m} \times \left(1 + \frac{w_{H_2O} \text{ in veldvochtige bodem}}{100} \right) + \frac{w_{H_2O} \text{ in veldvochtige bodem}}{100} \right]$$

met

C_N nitraatstikstof concentratie in droog monster in mg N/kg

C_1 nitraatstikstof concentratie in het extract na blanco correctie in mg N/l

V_{ext} volume extractievloeistof in ml (normaal 200 ml)

m gewicht van het veldvochtige monster dat in bewerking werd genomen voor de extractie in g (normaal 40 g)

$w_{H_2O} \text{ in veldvochtige bodem}$ vochtgehalte van de veldvochtige bodem bepaald volgens BAM/deel 1/03

6 BEPALING VAN HET NITRAATSTIKSTOF RESIDU OVER HET PROFIEL

6.1 Algemeen

De bepaling van de nitraatstikstof concentratie C_N gebeurt voor iedere bodemlaag afzonderlijk. Met behulp van de bodemdichtheid, bepaald volgens BAM/deel 1/09, wordt dat resultaat verder omgerekend. De dichtheid varieert naargelang het bodemtype en de bodemlaag (zie BAM/deel 1/09). Deze berekening moet dus gebeuren voor iedere bodemlaag afzonderlijk volgens :

$$C_i = \frac{C_{N,i} \times \rho_i \times D_i}{100}$$

met

C_i nitraatstikstof gehalte in bodemlaag i in kg NO₃-N/ha, afgerond tot op het gehele getal

$C_{N,i}$ nitraatstikstof concentratie in bodemlaag i in mg N/kg droge bodem

ρ_i dichtheid van bodemlaag i in kg/m³

D_i hoogte van bodemlaag i in meter (normaal 0.3 m); bij afwijkende hoogte moet hier de juiste hoogte van de betreffende laag gebruikt worden.

Uiteindelijk worden de resultaten gecombineerd tot een totaalvracht over het bemonsterd profiel :

$$C_D = C_1 + C_2 + C_3$$

met

C_D totaalvracht nitraatstikstof tot een diepte D in kg NO₃-N /ha, afgerond tot op het gehele getal

6.2 Opmerkingen

- a. Als in het kader van een nitraatresidu bepaling in de periode van 1 oktober tot 15 november niet over de volledige diepte van het profiel (tot 90 cm) bemonsterd kon worden, **moet dat worden vermeld op het analyseverslag samen met de effectieve bemonsteringsdiepte.**
 1. op het analyseverslag wordt per laag vermeld tot op welke diepte (D_i) bemonsterd kon worden en wordt de verkregen waarde in kg NO₃-N/ha voor de effectieve bemonsteringsdiepte per laag (C_i) als dusdanig gerapporteerd.
 2. de totaalvracht (C_D) wordt berekend over de effectief bemonsterde diepte (D). Op het analyserapport wordt expliciet vermeld dat dit slechts de totaalvracht nitraatstikstof is tot op de effectief bemonsterde diepte, samen met die diepte.

3. enkel wanneer de laag 60-90 cm niet tot de volledige diepte bemonsterd kon worden, wordt de totaalvracht over de volledige diepte van 90 cm berekend door het verkregen resultaat over de effectief bemonsterd diepte (C_D) lineair te extrapoleren over de volledige diepte tot 90 cm volgens :

$$C_{90} = \frac{C_D}{D} \times 90$$

D totale bemonsteringsdiepte in cm

C_{90} totaalvracht tot een diepte van 90 cm in kg $\text{NO}_3\text{-N}$ /ha

- b. Op het analyseverslag wordt bij de totaalvracht in dat geval expliciet vermeld dat dit een berekende waarde.
- c. Informatie over de bemonsteringsdiepte moet deel uitmaken van de monster identificatie. Deze gegevens moeten beschikbaar en gemakkelijk opvraagbaar zijn bij de berekening van de resultaten.
- d. Informatie betreffende de hoogte van de waterstand moet opgenomen worden in het analyseverslag. Deze informatie heeft geen invloed op de berekeningen of analyses maar is van belang bij de interpretatie.

7 REFERENTIES

- a. ISO/TS 14256-1 :2003 Soil quality - Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution - Part 1 : Manual method
- b. ISO 14256-2 :2005 Soil quality - Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution - Part 2 : Automated method with segmented flow analysis.

BAM/DEEL 1/07 – BODEM – BEPALING VAN AMMONIUMSTIKSTOF

1 PRINCIPE

Voor de bepaling van ammoniumstikstof in bodem moet er een extractie worden uitgevoerd met kaliumchloride (KCl). Aangezien bij het drogen van bodemonsters verliezen kunnen optreden door vervluchtiging of fouten door omzetting van organisch materiaal, moet die extractie gebeuren op het veldvochtige monster. In dat extract wordt de ammoniumstikstof concentratie spectrofotometrisch bepaald. De concentraties worden omgerekend naar droge stof. Hiertoe wordt het vochtgehalte in het veldvochtige bodemonster bepaald zoals beschreven in BAM/deel 1/03.

2 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering van de bodem gebeurt in lagen van 30 cm. De bepaling van ammoniumstikstof gebeurt in iedere laag afzonderlijk. Uiteindelijk worden in voorkomend geval de resultaten van de verschillende lagen gecombineerd tot een totale hoeveelheid over de volledige bemonsterde diepte.

Voor de uitvoering van de bemonstering wordt verwezen BAM/deel 1/01.
De voorbehandeling gebeurt volgens BAM/deel 1/02.

3 EXTRACTIEPROCEDURE

3.1 Apparatuur en materiaal

- 3.1.1 Lineair schudtoestel of overkopmenger
- 3.1.2 Balans met een nauwkeurigheid van 10 mg.

3.2 Reagentia

- 3.2.1 Kaliumchloride-oplossing, 1 mol/l : 74.6 g/l KCl in water

3.3 Werkwijze

- a. Weeg 40 g veldvochtig gehomogeniseerd monster af tot op 0.1g nauwkeurig in een recipiënt : m
- b. Voeg 200 ml KCl oplossing toe
- c. Schudden gedurende 1h bij constante temperatuur ($20 \pm 2^{\circ}\text{C}$)
- d. Het extract wordt gecentrifugeerd of gefiltreerd. Spoel de filter voor met KCl oplossing alvorens het extract te filtreren. Vang het overige filtraat op in een droog recipiënt.

4 BEPALING VAN AMMONIUMSTIKSTOF IN EXTRACTEN

Na extractie met KCl moeten de relevante stikstof fracties onmiddellijk bepaald worden, of ten laatste 1 dag na de extractie. Als dat niet mogelijk is, kunnen de extracten bewaard worden in de koelkast bij temperaturen lager dan 4°C voor maximum 1 week.

De volgende spectrofotometrische analysemethoden kunnen toegepast worden voor de bepaling van nitraat in bodem :

- ISO/TS 14256-1 :2003 Soil quality - Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution - Part 1 : Manual method.
- ISO 14256-2 :2005 Soil quality - Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution - Part 2 : Automated method with segmented flow analysis.
- NBN EN ISO 11732 :2005 Water quality — Determination of ammonium nitrogen — Method by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection.
- NEN 6604 :2007 Water - Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie.

Voor de uitvoering van de analyse wordt verwezen naar bovenstaande normmethode.

5 BEREKENINGSWIJZE

De verkregen ammoniumstikstofconcentratie wordt omgerekend naar een concentratie C_N (mg N/kg) in droog monster met de volgende formule :

$$C_N = C_1 \times \left[\frac{V_{ext}}{m} \times \left(1 + \frac{w_{H_2O} \text{ in veldvochtige bodem}}{100} \right) + \frac{w_{H_2O} \text{ in veldvochtige bodem}}{100} \right]$$

met

C_N ammoniumstikstof concentratie in droog monster in mg N/kg

C_1 ammoniumstikstof concentratie in het extract na blancocorrectie in mg N/l

V_{ext} volume extractievloeistof in ml (normaal 200 ml)

m gewicht van het veldvochtige monster dat in bewerking werd genomen voor de extractie in g (normaal 40 g)

$w_{H_2O} \text{ in veldvochtige bodem}$ vochtgehalte van de veldvochtige bodem bepaald volgens BAM/deel 1/03

6 BEPALING VAN DE AMMONIUMSTIKSTOF OVER HET PROFIEL

De bepaling van de ammoniumstikstof concentratie C_N gebeurt voor iedere bodemlaag afzonderlijk. Met behulp van de bodemdichtheid, bepaald volgens BAM/deel 1/09, wordt dat resultaat verder omgerekend. De dichtheid varieert naargelang het bodemtype en de bodemlaag (zie BAM/deel 1/09). Deze berekening moet dus gebeuren voor iedere bodemlaag afzonderlijk volgens :

$$C_i = \frac{C_{N,i} \times \rho_i \times D_i}{100}$$

met

C_i ammoniumstikstof gehalte in bodemlaag i in kg $\text{NH}_4\text{-N}$ /ha, afgerond tot op het gehele getal

$C_{N,i}$ ammoniumstikstof concentratie in bodemlaag i in mg N/kg droge bodem

ρ_i dichtheid van bodemlaag i in kg/m^3

D_i hoogte van bodemlaag i in meter (normaal 0.3 m); bij afwijkende hoogte moet hier de juiste hoogte van de betreffende laag gebruikt worden.

Uiteindelijk worden de resultaten gecombineerd tot een totaalvracht over het bemonsterd profiel :

$$C_D = C_1 + C_2 + C_3$$

met

C_D totaalvracht ammoniumstikstof tot een diepte D in kg $\text{NH}_4\text{-N}$ /ha, afgerond tot op het gehele getal

7 REFERENTIES

- a. ISO/TS 14256-1 :2003 Soil quality - Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution - Part 1 : Manual method.
- b. ISO 14256-2 :2005 Soil quality - Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution - Part 2 : Automated method with segmented flow analysis.

BAM/DEEL 1/08 – BODEM – BEPALING VAN DE FOSFAATVERZADIGINGS- GRAAD

1 PRINCIPE

In zure grond reageren fosfaationen met ijzer- en aluminiumionen tot slecht oplosbare verbindingen. De hoeveelheid fosfaat die zo kan worden vastgelegd, is afhankelijk van de hoeveelheid en van de vorm waarin ijzer- en aluminiumionen in de grond voorkomen. De 'actieve' vormen (de vormen die het P_{ox} binden) in zure zandgronden zijn de amorfe en microkristallijne vormen van ijzer en aluminium en de ionen van ijzer en aluminium gebonden aan organische stof. Extractie van de grond met ammoniumoxalaat en oxaalzuur maakt het mogelijk de 'actieve' vormen van ijzer (Fe_{ox}) en aluminium (Al_{ox}) afzonderlijk te bepalen.

De fosfaatverzadigingsgraad wordt uitgedrukt als het procentueel aandeel van de hoeveelheid oxalaat extraheerbaar fosfaat in een bodem ten opzichte van het fosfaatbindend vermogen.

$$FVG = \frac{P_{ox}}{FBV} \times 100 \quad (\%)$$

met FVG fosfaatverzadigingsgraad
 FBV fosfaatbindend vermogen
 P_{ox} oxalaat extraheerbaar fosfaat

Het oxalaat extraheerbaar fosfaat wordt bepaald door een hoeveelheid grond te extraheren met een oplossing van oxaalzuur en ammoniumoxalaat. Na filtratie wordt in het filtraat de hoeveelheid fosfaat bepaald. Het fosfaatbindend vermogen wordt bepaald door een extractie van de grond met oxaalzuur en ammoniumoxalaat en dan de 'actieve' vormen van ijzer en aluminium afzonderlijk te bepalen.

2 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering van de bodem gebeurt in lagen van 30 cm. De bepaling van het fosfaatbindend vermogen en het oxalaat extraheerbaar fosfaat gebeurt in iedere laag afzonderlijk. Uiteindelijk wordt uit de resultaten van de verschillende lagen de profielgemiddelde fosfaatverzadigingsgraad bepaald.

Voor de uitvoering van de bemonstering wordt verwezen BAM/deel 1/01.
De voorbehandeling gebeurt volgens BAM/deel 1/02.

3 EXTRACTIE

De extractie wordt in een donker recipiënt uitgevoerd.

- weeg nauwkeurig 5.00 g luchtdroge grond (< 2 mm) af in een donker polyethyleenflesje;
- voeg 100 ml extractievloeistof (17.56 g oxaalzuur en 28.40 g ammoniumoxalaat oplossen in 1 l ultra puur water) toe;
- schud gedurende 2 uur afgeschermd van licht op een schudtoestel bij 20°C ;
- filtreer daarna het extract over een asvrije filter;
- voer de analyse uit op het filtraat.

4 BEPALING VAN HET OXALAAT-EXTRAHEERBARE FOSFAATGEHALTE (POX) VAN EEN ZURE ZANDGROND

4.1 Principe

De hoeveelheid fosfaat in het extract wordt na destructie (punt 4.2) colorimetrisch bepaald volgens de methode van Scheel of met ICP-AES (NBN EN ISO 11885 :2009)¹.

De colorimetrische bepaling steunt op de vorming van een blauw gekleurd fosformolybdeencomplex binnen een bepaald pH gebied. De intensiteit van de blauwe kleur is evenredig met de concentratie fosfaat in oplossing. De blauwkleuring wordt evenwel verhinderd door de aanwezigheid van oxaalzuur. Dat oxaalzuur moet vooraf afgebroken worden door een destructie. Hierbij wordt het oxalaat door oxidatie met geconcentreerd H_2SO_4 en H_2O_2 omgezet in CO_2 .

4.2 Destructie van oxalaat in het extract

- Aan 10 ml extract in een 100 ml maatbekertje wordt 1 ml geconcentreerd H_2SO_4 (minimaal 95%) toegevoegd.
- Op de verwarmingsplaat worden de bekertjes verwarmd tot het oxaalzuur volledig is afgebroken (de vloeistof is uitgebruist en er verschijnen witte dampen).
- Na afkoelen wordt 2 ml H_2O_2 (minimaal 27 %) (Perhydrol, themostabiel H_2O_2) toegevoegd en opnieuw opgekookt. Bij eventuele neerslagvorming moet nog eventjes opgekookt worden met ultra puur water.
- Na afkoeling wordt het destruaat kwantitatief overgebracht in kolfjes van 50 ml en aangelengd met ultra puur water tot de maatstreep.

4.3 Reagentia

4.3.1 Scheel 1

1 g 4-methylaminofenolsulfaat ($(\text{CH}_3\text{NHC}_6\text{H}_4\text{OH})_2\cdot\text{H}_2\text{SO}_4$), 5 g watervrij natriumsulfiet (Na_2SO_3), 75 g natriumdisulfiet ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) en 200 mg laurylsulfaat oplossen, aanlengen met ultra puur water tot 1 l en homogeniseren.

¹NBN EN ISO 11885 :2009 : Waterkwaliteit - Bepaling van geselecteerde elementen met optische emissiespectrometrie met inductief gekoppeld plasma (ICP-OES) (ISO 11885 :2007).

4.3.2 Scheel 2

50 g ammoniummolybdaat ((NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O) oplossen in ongeveer 250 ml H₂O, 140 ml geconcentreerd H₂SO₄ toevoegen, afkoelen, aanlengen met ultra puur water tot 1 l en homogeniseren.

4.3.3 Scheel 3

340 g natriumacetaat (CH₃COONa·3H₂O) oplossen en aanlengen met ultra puur water tot 1 l.

4.3.4 Bereid een standaardoplossing van 25 mg P/l

4.4 Werkwijze

- Voor de standaarden wordt 0, 1, 2, 3, 4, 5 en 6 ml van 25 mg P/l stockoplossing gepipetteerd in een kolf van 50 ml. Dit komt overeen met een concentratie van 0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5 en 3 mg P/l
- De hoeveelheid destruaat moet worden gevarieerd in functie van de concentratie. Breng die hoeveelheid in een kolf van 50 ml.
- Voeg 5 ml van Scheel 1 (4.3.1) toe, schud; voeg 5 ml van Scheel 2 (4.3.2) toe en schud.
- Voeg na 15 minuten 10 ml van Scheel 3 (4.3.3) toe en leng de maatkolpjes van 50 ml aan met ultra puur water tot aan de maatstreep.
- Homogeniseer en laat 15 minuten rusten
- Meet de absorbantie bij 662 nm.

4.5 Berekening

Met een ijklijn verkrijgt men de fosfaatconcentratie (uitgedrukt als fosfor) in de kolf van 50 ml. Om die om te rekenen naar de concentratie in het destruaat (C_I) moet men rekening houden met de gebruikte verdunning (50/volume genomen voor fotometrische bepaling).

Deze concentratie moet verder worden omgerekend van mg P/l naar mmol P/kg luchtdroge bodem. Dit gebeurt volgens :

$$P_{ox} = C_I \times 0.1 \times 5 \frac{1000}{30.97 \times m} = \frac{C_I}{m} \times 16.14 \quad (\text{mmol P/kg luchtdroge bodem})$$

met

- P_{ox} extraheerbare fosforconcentratie in bodem in mmol P/kg bodem, afgerond op een decimaal
- C_I fosforconcentratie in het onverdunde destruaat in mg P/l
- 0.1 volume extract in l
- 5 verdunningsfaktor toegepast bij destructie van oxalaat (50/10)
- 30.97 atoommassa van fosfor in g/mol
- m gewicht grond genomen voor extractie in g (normaal 5.00 g)

5 BEPALING VAN HET FOSFAATBINDEND VERMOGEN (FBV)

Daartoe moeten de ijzer- en aluminiumconcentratie in het extract bepaald worden. De bepaling van ijzer en aluminium gebeurt met behulp van een atoom absorptie spectrofotometer (AAS). Deze bepaling gebeurt rechtstreeks op het extract, na de juiste verdunning met ultra puur water of met ICP-AES na destructie van het oxalaat in het extract volgens (punt 4.2). (NBN EN ISO 11885 :2009).

5.1 Ijzerbepaling

Een verdunning van 3 ml extract (zie punt 3) naar 50 ml wordt uitgevoerd bij gebruik van standaarden van 2.5 en 5 ppm voor het opstellen van de ijkrechte. Indien tijdens de bepaling de concentratie te hoog of te laag blijkt wordt de verdunning van het monster aangepast.

5.2 Aluminiumbepaling

Een verdunning van 5 ml extract (zie punt 3) naar 25 ml met ultra puur water wordt uitgevoerd. Voor het opstellen van de ijkrechte wordt gebruik gemaakt van de standaarden 10, 25 en 50 ppm. Indien de concentratie aan Al in het monster te hoog of te laag blijkt, wordt de verdunning aangepast.

5.3 Berekeningen

$$Fe_{ox} = \frac{C_{I,Fe}}{m} \times 1.79 \quad (\text{mmol Fe/kg luchtdroge bodem})$$

met

Fe_{ox} geëxtraheerde ijzerconcentratie in bodem in mmol Fe/kg bodem, afgerond op het gehele getal

$C_{I,Fe}$ ijzerconcentratie in het onverdunde extract in mg Fe/l

m gewicht bodem in bewerking genomen voor de extractie in g (normaal 5.00 g)

$$Al_{ox} = \frac{C_{I,Al}}{m} \times 3.71 \quad (\text{mmol Al/kg luchtdroge bodem})$$

met

Al_{ox} geëxtraheerde aluminiumconcentratie in bodem in mmol Al/kg bodem, afgerond op het gehele getal

$C_{I,Al}$ aluminiumconcentratie in het onverdunde extract in mg Al/l

m gewicht bodem in bewerking genomen voor de extractie in g (normaal 5.00 g)

$$FBV = 0.5 \times (Fe_{ox} + Al_{ox}) \quad (\text{mmol P/kg luchtdroge bodem})$$

met

0.5 evenredigheidsfactor die experimenteel bepaald werd

Fe_{ox} oxalaat extraheerbaar ijzer (mmol per kg luchtdroge grond)

Al_{ox} oxalaat extraheerbaar aluminium (mmol per kg luchtdroge grond)

6 BEPALING VAN DE FOSFAATVERZADIGINGSGRAAD (FVG)

Om de fosfaatverzadigingsgraad van de bodem te bepalen worden het FBV en het oxalaat extraheerbaar fosfaat in de 3 lagen afzonderlijk bepaald. De gemiddelde waarden van FBV en P_{ox} worden berekend over het profiel en daaruit wordt de profielgemiddelde FVG berekend.

6.1 Bepaling van de gemiddelde FBV en P_{ox}

6.1.1 Indien over de hele diepte (tot 90 cm in 3 lagen) bemonsterd is :

$$FBV = \frac{FBV_1 + FBV_2 + FBV_3}{3}$$

$$P_{ox} = \frac{P_{ox,1} + P_{ox,2} + P_{ox,3}}{3}$$

6.1.2 Indien bemonsterd is tot een diepte tussen 0 en 30 cm (1e laag onvolledig bemonsterd) :

$$FBV = FBV_1 \quad \text{en} \quad P_{ox} = P_{ox,1}$$

6.1.3 Indien bemonsterd is tot een diepte tussen 30 en 60 cm (2e laag onvolledig bemonsterd) :

$$FBV = \frac{(FBV_1 \times 30) + (FBV_2 \times (\text{bemonsteringsdiepte} - 30))}{\text{bemonsteringsdiepte}}$$

$$P_{ox} = \frac{(P_{ox,1} \times 30) + (P_{ox,2} \times (\text{bemonsteringsdiepte} - 30))}{\text{bemonsteringsdiepte}}$$

6.1.4 Indien bemonsterd is tot een diepte tussen 60 en 90 cm (3e laag onvolledig bemonsterd) :

$$FBV = \frac{(FBV_1 \times 30) + (FBV_2 \times 30) + (FBV_3 \times (\text{bemonsteringsdiepte} - 60))}{\text{bemonsteringsdiepte}}$$

$$P_{ox} = \frac{(P_{ox,1} \times 30) + (P_{ox,2} \times 30) + (P_{ox,3} \times (\text{bemonsteringsdiepte} - 60))}{\text{bemonsteringsdiepte}}$$

6.2 Berekening van de profielgemiddelde fosfaatverzadigingsgraad

6.2.1 Algemeen

De profielgemiddelde fosfaatverzadigingsgraad wordt berekend volgens :

$$FVG = \frac{P_{ox}}{FBV} \times 100 \quad (\%)$$

met

FVG fosfaatverzadigingsgraad in %, in gehele getallen

P_{ox} de profielgemiddelde waarde van het oxalaat extraheerbare fosfor.

FBV de profielgemiddelde waarde van het fosfaat bindend vermogen

6.2.2 Opmerkingen

- Indien niet over de volledige diepte van het profiel bemonsterd is, moet dat worden vermeld op het analyseverslag samen met de bemonsteringsdiepte. In de formule moet dan met een aangepaste diepte gewerkt worden.
- Informatie over de bemonsteringsdiepte moet deel uitmaken van de monsteridentificatie. Die gegevens moeten beschikbaar en gemakkelijk opvraagbaar zijn bij de berekening van de resultaten.
- Informatie betreffende de hoogte van de waterstand moet opgenomen worden in het analyseverslag. Deze informatie heeft geen invloed op de berekeningen of analyses maar is van belang bij de interpretatie.

BAM/DEEL 1/09 – BODEM – SCHIJNBAAR SOORTELIJK GEWICHT (DICHTHEID)

1 TOEPASSINGSGEBIED

Het schijnbaar soortelijk gewicht (dichtheid) wordt gebruikt om bij de bepaling van ammonium en nitraat de concentraties om te rekenen naar kg N/ha.

2 SCHIJNBAAR SOORTELIJK GEWICHT

2.1 Bodemlaag 1 (0 - 30 cm)

Er wordt voor de dichtheid van de bouwvoor (0 - 30 cm) een vaste bodem dichtheid aangenomen voor resp. de leem- en zandleemgronden (bodemorde Alfisol) enerzijds en de bodems in zandig Vlaanderen en de Kempen (bodemorde Spodosol) samen met de polders en duingronden (bodemorde Entisol) anderzijds.

- a. Voor de leem- en zandleemgronden (orde Alfisol) wordt een vaste gemiddelde dichtheid van 1450 kg/m³ vooropgesteld.
- b. Er wordt geen onderscheid gemaakt tussen de bodemordes Spodosol en Entisol. Om die reden wordt voor de gronden van zandig Vlaanderen en de Kempen en de polder- en duingronden een vaste gemiddelde dichtheid van 1250 kg/m³ vooropgesteld.

Het bodemtype kan rechtstreeks worden afgelezen van de bodemassociatiekaart.

2.2 Bodemlaag 2 en 3 (30 - 90 cm)

Voor de onderliggende bodemlagen (dieper dan 30 cm) wordt een vaste dichtheid van 1500 kg/m³ vooropgesteld.

BAM/DEEL 1/10 – BODEM – BEPALING VAN HET ORGANISCH KOOLSTOFGEHALTE

De bepaling van het organisch koolstofgehalte op een bodemmonster moet uitgevoerd worden zoals beschreven in hoofdstuk 3 van het “Compendium voor monsterneming en analyse in het kader van Bodembescherming”, zoals vastgesteld door de administratie, bevoegd voor bodembescherming, van het ministerie van de Vlaamse Gemeenschap, als vermeld in artikel 9, §4, van het besluit van de Vlaamse Regering van 8 juli 2005 tot instelling van een bedrijfstoelageregeling en tot vaststelling van bepaalde steunregelingen voor landbouwers en tot toepassing van de randvoorwaarden.

BAM/DEEL 1/11 – BODEM – BEPALING VAN FOSFAAT IN GROND EXTRAHEERBAAR MET EEN AMMONIUMLACTAAT-AZIJNZUURBUFFER (P-AL)

1 PRINCIPE

Deze norm beschrijft een methode voor de bepaling van het gehalte aan plantbeschikbare P in grond, extraheerbaar met een op pH = 3.75 gebufferde oplossing van ammoniumlactaat-azijnzuur. Deze methode kan worden toegepast op voorgedroogde grondmonsters, gezeefd over een zeef van 2 mm.

De voorgedroogde grondmonsters worden geëxtraheerd in een verhouding 1 :20 (massa/volume) met een oplossing van ammoniumlactaat-azijnzuurbuffer met een pH van 3.75. Met die extractievloeistof worden de aanwezige calciumfosfaatverbindingen en een deel van de aanwezige ijzer- en aluminiumverbindingen geëxtraheerd. Een gedeelte van het heldere filtraat wordt geanalyseerd op fosfaat volgens bestaande analysemethoden.

Opmerking : De methode is niet geschikt voor grondmonsters met een pH-KCl > 7.

2 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering van de bodem voor de bepaling van de plantbeschikbare P wordt uitgevoerd volgens BAM/deel 1/01.

De voorbehandeling gebeurt volgens BAM/deel 1/02.

3 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

3.1 Reagentia

3.1.1 Water, gebruik voor alle oplossingen water volgens NEN-EN-ISO 3696.

3.1.2 Natriumhydroxideoplossing, $c(\text{NaOH}) = 0.1 \text{ mol/l}$.

3.1.3 Zoutzuuroplossing, $c(\text{HCl}) = 0.1 \text{ mol/l}$.

3.1.4 Fenolphtaleïne-indicatoroplossing, verkregen door 1 g fenolphtaleïne op te lossen in 100 ml zuivere ethanol (circa 96 %).

3.1.5 Methylroodindicatoroplossing, verkregen door 0.1 g methylrood op te lossen in 100 ml ethanol (circa 60 %).

3.1.6 Melkzuur ($\rho = 1.21 \text{ g/cm}^3$)

Opmerking : De oplossing is 5 jaar houdbaar.

3.2 Oplossingen

3.2.1 Melkzuuroplossing (circa 3 mol/l).

Verkregen door 500 ml melkzuur te verdunnen met 1 l water in een pyrexflask, en waarmee de volgende handelingen zijn uitgevoerd. Dek de fles af met een horlogeglas en plaats ze gedurende 48 h in een stoof bij een temperatuur van 95°C om het melkzuur te laten hydrolyseren. Laat afkoelen.

Bepaal de concentratie van de oplossing als volgt. Pipetteer 10.0 ml van de oplossing in een maatkolf van 100 ml en vul aan met water. Homogeniseer en pipetteer van die verdunde oplossing 10.0 ml en titreer ze met een 0.1 mol/l NaOH-oplossing met fenolphthaleïne als indicator. Bereken de concentratie (= A) van de melkzuuroplossing.

3.2.2 Geconcentreerd azijnzuur (circa 16 mol/l).

Bepaal de exacte concentratie daarvan als volgt. Pipetteer met een pipet 10.0 ml azijnzuur in een maatkolf van 500 ml waarin reeds 400 ml water zit. Vul aan met water en homogeniseer. Pipetteer 10,0 ml van die verdunde oplossing en titreer ze met een 0.1 mol/l NaOH-oplossing met methylrood als indicator. Bereken de exacte concentratie (= B) van het geconcentreerde azijnzuur.

3.2.3 Geconcentreerde ammonia (circa 13 mol/l).

Bepaal de exacte concentratie daarvan als volgt. Pipetteer met een pipet 10.0 ml ammonia in een maatkolf van 500 ml waarin reeds 400 ml water zit. Vul aan met water en homogeniseer. Pipetteer 10.0 ml van die verdunde oplossing en titreer ze met een 0.1 mol/l HCl-oplossing met methylrood als indicator. Bereken de exacte concentratie (= C) van de geconcentreerde ammonia.

Opmerking : De gestelde waarde van oplossingen 3.2.1 t.e.m. 3.2.3 zijn 1 dag geldig. Als oplossing 3.2.4 wordt gemaakt uit niet-verse oplossingen moeten die oplossingen opnieuw worden gesteld.

3.2.4 Geconcentreerde extractieoplossing.

Neem een 1 l-maatkolf die al 300 ml water bevat en voeg daaraan toe : 1000/A ml van de melkzuuroplossing, 4000/B ml geconcentreerd azijnzuur en 1000/C ml geconcentreerde ammonia, meng na elke toevoeging. Laat afkoelen en vul aan met water en homogeniseer.

Opmerking : De oplossing is 1 jaar houdbaar.

3.2.5 Verdunde extractieoplossing.

Verdun 500 ml van de geconcentreerde extractieoplossing (3.2.4) tot 5 l met water. De pH van de oplossing moet zijn : 3.75 ± 0.05 .

Opmerking : Deze oplossing is 5 dagen houdbaar.

4 APPARATUUR

- 4.1 Gebruikelijk laboratoriumglaswerk.
- 4.2 Schudflessen van 100 ml met wijde opening.
- 4.3 Schudmachine (180 slagen per minuut).
- 4.4 Hardpapieren filters die fosfaatvrij zijn en geen fosfaat adsorberen.
- 4.5 pH-meter

5 PROCEDURE

Weeg 2.5 g $\pm$ 0.05 g voorgedroogd grondmonster af in een schudfles en voeg 50 ml verdunde extractieoplossing (3.2.5) toe. Neem twee blancomonsters mee. Schud gedurende 4 h bij een temperatuur van 20 ± 2 °C. Filtreer de suspensies en blancomonsters. Controleer de filtraten op helderheid. Filtreer zo nodig een tweede maal.

6 ANALYSE

Bepaal binnen 24 uur na extractie, zo nodig in een verdunning, de P-concentratie van de filtraten volgens een geschikte analysemethode :

- a. ISO 15681-1 : 2003 Water quality – Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA) – Part 1 : Method by flow injection analysis (FIA)
- b. ISO 15681-2 : 2003 Water quality – Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA) – Part 2 : Method by continuous flow analysis (CFA)
- c. ISO 6878 : 2004 Water quality – Determination of phosphorus – Ammonium molybdate spectrometric method
- d. NEN 6604 :2007 Water - Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie
- e. Colorimetrische methode van Scheel
- f. NBN EN ISO 11885 : 2009 Waterkwaliteit - Bepaling van geselecteerde elementen met optische emissiespectrometrie met inductief gekoppeld plasma (ICP-OES) (ISO 11885 :2007).

Opmerking : Standaardreeks behoort in hetzelfde medium (3.2.5) als de grondextracten te worden gemaakt.

7 BEREKENING

Het gehalte aan extraheerbaar fosfaat volgens de *P-AL*-methode wordt uitgedrukt in mg P per 100 g luchtdroge grond, en wordt berekend met de volgende formule :

$$P-AL = \frac{(a-b) \times f}{m} \times 5$$

waarin :

$P - AL$	is het gehalte aan extraheerbaar fosfaat in grondmonsters, in mg P per 100 g luchtdroge grond;
a	is de concentratie fosfaat in het grondextract, in mg/l P;
b	is de gemiddelde concentratie fosfaat in de blancomonsters, in mg/l P;
m	is de massa van het ingewogen luchtdroog grondmonster in g;
f	is verdunningsfactor.

Opmerking : 1 mg P per kg = 0.229 mg P₂O₅ per 100 g

8 REFERENTIES

- H. Egner, H. Riehm en W.R. Domingo, *Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung des Nährstoffzustandes der Böden. II Chemische Extraktionsmethoden zur Phosphor- und Kaliumbestimmung*, Kungl. Lantbrukshögskolans Ann. 26, 199-215, 1960.
- NEN 5793 (2^{de} ontwerp) : 2008 Bodem – Bepaling van fosfaat in grond extraheerbaar met een ammoniumlactaat-azijnzuurbuffer (P-AL).

BAM/DEEL 1/12 – BODEM – BEPALING VAN SNEL VRIJKOMENDE ORGANISCHE STIKSTOF

1 PRINCIPE

Het organisch materiaal ter studie wordt geïncubeerd in een referentiebodem onder gecontroleerde omstandigheden van temperatuur, vochtgehalte en dichtheid. Op regelmatige tijdstippen worden monsters genomen voor het bepalen van de hoeveelheid minerale N in de bodem. Aan de hand van de tijdsreeksen van het minerale N gehalte in de bodem kan dan de mineralisatie (eventueel immobilisatie) van N uit het organisch materiaal bepaald worden.

2 WERKWIJZE

2.1 Voorbehandeling van de bodem

Er wordt gewerkt met een referentiebodem². De referentiebodem wordt gedroogd tot luchtdroog en gezeefd op een zeef van 2 mm. Vervolgens wordt de bodem in een container gestapeld bij een dichtheid van 1.4 Mg m^{-3} en bevochtigd tot een vochtgehalte van 35% met water gevuld poriënvolume³. De bodem wordt op die manier gedurende één week geïncubeerd bij een temperatuur van $15 \pm 2^\circ\text{C}$.

2.2 Het toegediende organisch materiaal

Na de pre-incubatie moet het organisch materiaal in verse toestand, zoals het in de praktijk zal worden gebruikt, aan de referentiebodem worden toegediend. In de meeste gevallen bestaat het in te werken materiaal uit fijne deeltjes. Het moet voor inwerken zeer goed gehomogeniseerd worden. In het geval het gaat om grof materiaal (bijvoorbeeld planten) moet dat verder fijngesneden of fijngehakt worden tot deeltjes met een grootte van 0.25 tot 0.5 cm². De gewenste, vooraf bepaalde, hoeveelheid van het organisch materiaal wordt intensief met een bepaalde hoeveelheid referentiebodem gemengd (voldoende voor het vullen van één incubatiecontainer : het materiaal mag dus niet in bulk met de totale hoeveelheid bodem gemengd worden, teneinde de variabiliteit te minimaliseren). Bij de bepaling van de hoeveelheid organisch materiaal die moet toegediend worden zal de dosis die in de praktijk gebruikt wordt de leidraad vormen.

2.3 Incubatie

Als incubatiecontainers worden PVC cilinders gebruikt met een lengte van 0.18 m en een binnendiameter van 0.046 m, onderaan voorzien van een goed aansluitend kapje. Deze incubatiecontainers worden gevuld tot een hoogte van 10 cm met het mengsel van het organisch materiaal met de bodem. De schijnbare dichtheid van

² De referentiebodem heeft een gehalte aan initieel aanwezige minerale N < 20 mg N-NO₃/kg en een lage mineralisatiepotentiaal, zodat de mineralisatie uit het toegevoegde organisch materiaal goed te volgen is. De textuur van de referentiebodem moet lemig zand, licht zandleem, zandleem of leem zijn met een pH KCl tussen 5 en 7.5, en een organisch koolstof gehalte kleiner dan 1.5%.

³ Het poriënvolume wordt berekend als $1 - (\text{dichtheid droge bodem} / 2.65)$. In dit geval $1 - (1.4/2.65) = 47.2\%$. Een vochtgehalte van 35% met water gevuld poriënvolume komt overeen met 16.5 volume % vocht per volume eenheid droge bodem. Rekening houdend met dichtheid van droge bodem is dit 118 ml water toevoegen aan 1 kg droge bodem

de bodem in de container wordt op een vooraf bepaalde waarde gebracht door het mengsel aan te drukken. Dit aandrukken moet gelijkmatig gebeuren tijdens het vullen van de container, zodat een homogene dichtheid verkregen wordt over de hele lengte van de container. Er moet bijzondere zorg voor worden gedragen dat het bodemoppervlak niet verslemt wordt bij het aanpassen van de dichtheid, daar dat de mineralisatie negatief kan beïnvloeden. Voor een vulhoogte van 10 cm en een waarde van de schijnbare dichtheid van 1.4 Mg m^{-3} moet aldus 233 g droge referentiegrond in de container afgewogen worden. Bij het afwegen van de bodem moet uiteraard rekening worden gehouden met het vochtgehalte van de bodem na de pre-incubatie. Na het vullen wordt het vochtgehalte van het mengsel in de incubatiecontainers aangepast tot 50% met water gevuld poriënvolume, rekening houdend uiteraard met het vochtgehalte in het toegediende organisch materiaal en het reeds aanwezige vocht in de bodem. De containers worden vervolgens afgesloten met een laagje parafilm, dat de vochtverliezen tijdens de incubatie minimaliseert, maar wel nog gas uitwisseling toelaat. Het gewicht van de gevulde containers wordt bepaald. Dit gewicht wordt genoteerd en in de loop van de incubatie regelmatig gecontroleerd om na te gaan of er geen overdreven vochtverliezen plaatsgrijpen. Daalt het vochtgehalte in een incubatiecontainer met meer dan 1% (absoluut) in de loop van de incubatie, dan moet dat vochtgehalte aangepast worden door ultra puur water toe te voegen. De bodem wordt geïncubeerd bij een constante temperatuur van 15°C .

Er worden ook containers geïncubeerd met enkel de bodem, dus zonder toegevoegd organisch materiaal, die moeten toelaten om de netto N mineralisatie te bepalen (= blanco monsters).

De totale duur van de incubatie bedraagt 4 maanden.

2.4 Bemonstering

Er worden 9 monsternames voorzien gedurende de incubatie. Dit aantal is nodig om de sterke variabiliteit die onvermijdelijk is bij het werken met vers organisch materiaal te ondervangen. De duur van de incubatie bedraagt 4 maanden. Op vooraf bepaalde tijdstippen worden een aantal incubatiecontainers bemonsterd (telkens zowel containers met als containers zonder toegevoegd organisch materiaal) voor een destructieve bepaling van het gehalte aan minerale N in de bodem. De bemonstering gebeurt op dag 0 en verder om de 15 dagen tot het einde van de incubatie (dag 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, en 120). De bemonstering gebeurt minimaal in drievoud, d.w.z. dat er minimaal drie containers met en drie containers zonder toegevoegd organisch materiaal moeten geanalyseerd worden per bemonsteringstijdstip.

2.5 Analyse

Op basis van de aanbevolen dosis van het monster uitgedrukt in ton per ha wordt een oppervlakteverhoudings equivalent berekend voor opname in de incubatiecontainer (m_{monster}).

Zowel op de referentiebodem als op het monster wordt een vochtgehalte bepaald teneinde het vochtgehalte in de incubatiecontainer aan te passen tot 50% met water gevuld poriënvolume.

Voor de incubatie wordt een totaal N analyse uitgevoerd op het monster $[N_{\text{tot monster}}]$

Op basis van het totaal N gehalte in het monster $[N_{\text{tot monster}}]$ en de toegevoegde hoeveelheid monster per incubatiecontainer kan de netto hoeveelheid extra toegevoegd totaal N per incubatiecontainer worden berekend ($[N_{\text{monster}}]$).

Bij de opstart van de incubatie, op 6 intermediaire tijdstippen en na 4 maanden wordt een analyse van minerale N ($\text{NO}_3^- \text{-N} + \text{NO}_2^- \text{-N} + \text{NH}_4^+ \text{-N}$) uitgevoerd op het mengsel en de referentiebodem (blanco). De incubatiecontainers worden geledigd, de inhoud ervan wordt intensief gemengd en een vers deelmonster (30 gram) wordt onmiddellijk geëxtraheerd met een KCl oplossing (150 ml; 1 M) voor de bepaling van de hoeveelheid minerale N in het extract ($\text{NO}_3^- \text{-N} + \text{NO}_2^- \text{-N} + \text{NH}_4^+ \text{-N}$)

Een ander deelmonster (30 gram) wordt gebruikt om het vochtgehalte van de grond in de container te bepalen (drogen bij 105°C tot constant gewicht). Op basis van de geanalyseerde extracten kunnen de volgende gehalten worden berekend op elk tijdstip :

- $[\text{NO}_3, \text{bodem}]$: nitraat gehalte in referentiebodem uitgedrukt in mg N- NO_3 per incubatiecontainer
- $[\text{NH}_4, \text{bodem}]$: ammonium gehalte in referentiebodem uitgedrukt in mg N- NH_4 per incubatiecontainer
- $[\text{NO}_3, \text{mengsel}]$: nitraat gehalte in mengsel uitgedrukt in mg N- NO_3 per incubatiecontainer
- $[\text{NH}_4, \text{mengsel}]$: ammonium gehalte in mengsel uitgedrukt in mg N- NH_4 per incubatiecontainer

In totaal worden de volgende hoeveelheid analyses voorzien

Voor incubatie

- 2 bepalingen Totaal-N (enkel monster)
- 4 bepalingen van vochtgehalte (2 referentiebodem, 2 monster)

Tijdens incubatie (9 tijdstippen)

- 54 extracties met KCl
- 54 bepalingen van $\text{NO}_3^- \text{-N} + \text{NO}_2^- \text{-N}$
- 54 bepalingen van $\text{NH}_4^+ \text{-N}$
- 9 bepalingen van het vochtgehalte

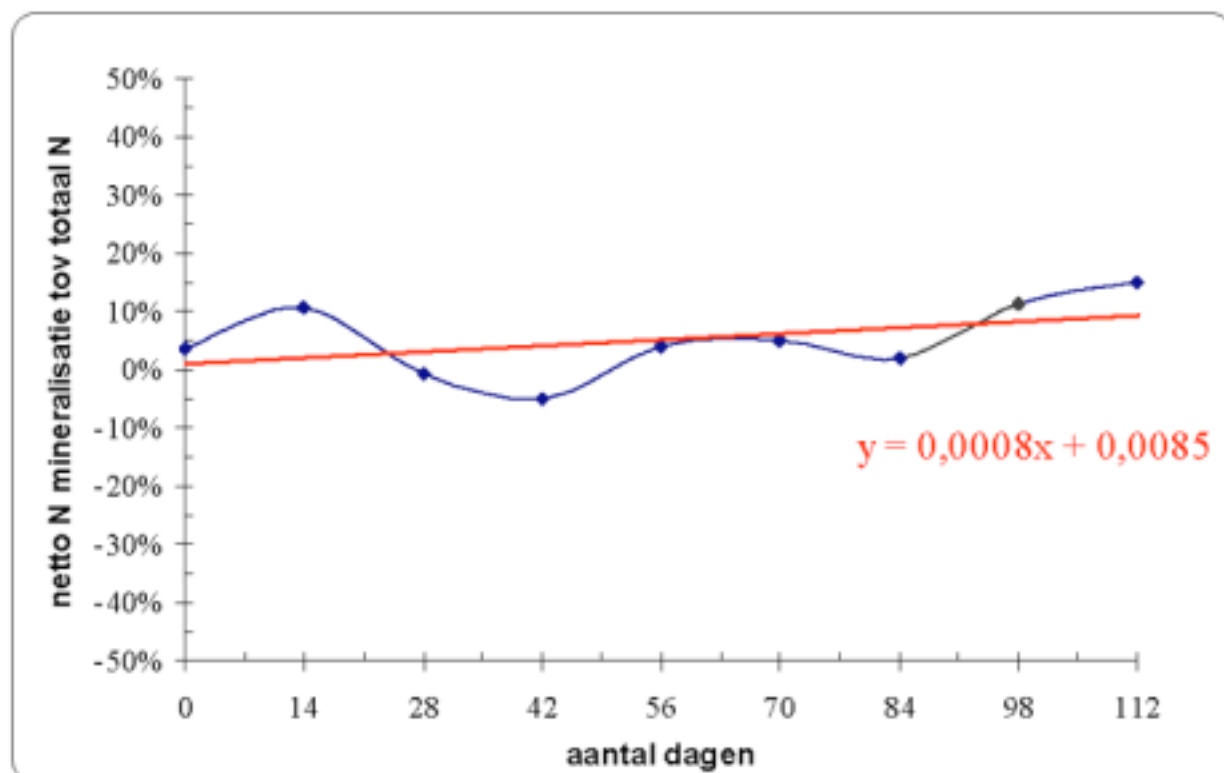
3 BEREKENINGEN

De netto hoeveelheid gemineraliseerde N wordt berekend door van de minerale N gehaltes bepaald in de behandelingen met toegevoegd organisch materiaal de minerale N hoeveelheden gemeten in de blanco behandeling af te trekken. De hoeveelheid gemakkelijk mineraliseerbare N uit het organisch materiaal wordt dan berekend door de hoeveelheid na 4 maanden vrijgestelde minerale N uit te drukken op de totale hoeveelheid N (organische + minerale N) aanwezig in het materiaal.

De procentuele netto stikstof mineralisatie (% N mineralisatie) uitgedrukt t.o.v. totaal extra toegevoegde totaal stikstof (afkomstig van monster) wordt per tijdstip berekend als :

$$\% N_{\text{mineralisatie}} = \frac{([NO_{3,\text{mengsel}}] - [NO_{3,\text{bodern}}]) + ([NH_4,\text{mengsel}] - [NH_4,\text{bodern}])}{[N_{\text{monster}}]}$$

Het procentueel gehalte aan snel vrijkomende organische stikstof wordt berekend door lineaire regressie op de 9 punten uit te voeren en het gehalte procentuele netto stikstof mineralisatie na 4 maanden te berekenen (voorbeeld presentatie hieronder, het procentueel gehalte aan snel vrijkomende organische stikstof bedraagt 9.8 %).



BAM/DEEL 1/20 – BODEM – RAPPORTERING

De volgende gegevens moeten vermeld worden op het analyserapport :

1 ALGEMEEN

- a. Briefpapier van het laboratorium met minimaal vermelding van naam, adres, telefoon, fax, e-mail
- b. Uniek rapportnummer
- c. Uniek nummer monster en nummer monster toegekend door de mestbank (indien van toepassing)
- d. Detailnummer of nummer van de beheersovereenkomst (indien van toepassing)
- e. Datum van de analyse
- f. Datum verzending rapport
- g. Naam en handtekening van de verantwoordelijke laboratorium (mag eventueel digitaal)
- h. Naam en adres van degene aan wie het rapport bezorgd wordt

2 BETREFFENDE DE MONSTERNAME

- a. Naam van de monsternemer. Indien het laboratorium specifieke identificatienummers hanteren voor hun monsternemers, worden die eveneens op het verslag vermeld.
- b. Indien het monster niet genomen werd door een monsternemer verbonden aan het laboratorium, moet dat uitdrukkelijk vermeld worden op het analyserapport.
- c. Datum van de monstername
- d. Landbouwer aanwezig bij de monstername. (J/N)
- e. Perceel beteeld (J/N)
- f. Veen in ondergrond (J/N)
- g. Indien niet bemonsterd werd tot de vereiste diepte bepaald volgens BAM/deel 1/01 moet de exacte bemonsteringsdiepte gerapporteerd worden + reden

Wanneer het een bodemonstername betreft voor de bepaling van :

- a. de profielgemiddelde fosfaatverzadigingsgraad, het fosfaatbindend vermogen en het gehalte aan P-oxalaat in zure zandbodems (artikel 17, §5 en §6, van het Mestdecreet en besluit van de Vlaamse Regering van 31 maart 2000 tot aanwijzing van de gebiedsgerichte verscherpingen als vermeld in artikel 15bis, 15quater, 15quinquies en 17 van het decreet van 23 januari 1991 inzake de bescherming van het leefmilieu tegen de verontreiniging door meststoffen, zoals gewijzigd bij besluit van de Vlaamse Regering van 29 april 2005)
- b. het nitraatresidu (artikel 14 en 15 van het Mestdecreet)
- c. het nitraatresidu in het kader van de beheersovereenkomsten water (artikel 58 9° van het ministerieel besluit van 11 juni 2008 betreffende het sluiten van beheersovereenkomsten en het toekennen van vergoedingen ter uitvoering van Verordening (EG) nr. 1698/2005 van de Raad van 20 september 2005 inzake steun voor plattelandsontwikkeling)

- d. ammoniumstikstof, nitraatstikstof en organische koolstof met het oog op stikstofbemesting uit kunstmest na 1 september voor tuinbouwteelten (artikel 4 §4 van het besluit van de Vlaamse Regering van 10 oktober 2008 betreffende nadere regels rond tuinbouw ter uitvoering van het decreet van 22 december 2006 houdende de bescherming van water tegen de verontreiniging door nitraten uit agrarische bronnen – hierna het Tuinbouwbesluit te noemen)
- e. plantbeschikbare fosfor met het oog op het opbrengen van fosfaat uit kunstmest (artikel 6 van het Tuinbouwbesluit)
- f. het nitraatresidu en organische koolstof met het oog op het opbrengen van compost op percelen met een te laag koolstofgehalte (artikel 8 van het Tuinbouwbesluit).

Moet het perceel eenduidig geïdentificeerd worden door de volgende gegevens op het verslag te vermelden :

- a. het landbouwnummer van de gebruiker van het perceel zoals gedefinieerd in het GBCS en
- b. het perceelsnummer van het betreffende perceel zoals gedefinieerd in het GBCS voor het jaar van monsternamen en zoals vermeld op de verzamelaanvraag van de betreffende landbouwer van het betreffende jaar OF de X-Y-coördinaten van het perceel.

BAM/DEEL 2/00 – VEEVOEDER – TOEPASSINGSGEBIED

De methoden hebben betrekking op de bemonstering en analyse van veevoeder zoals voorzien in het decreet van 22 december 2006 houdende de bescherming van water tegen verontreiniging door nitraten uit agrarische bronnen (hierna het Mestdecreet te noemen) en zijn uitvoeringsbesluiten :

Het uitvoerend laboratorium moet erop toezien dat de bemonstering en analyse steeds volgens de hierna beschreven methodologie gebeurt en draagt daarvoor ook de verantwoordelijkheid.

De methoden zijn overgenomen uit de Europese richtlijnen inzake bemonsterings- en analysemethoden voor de officiële controle van diervoeders.

BAM/DEEL 2/01 – VEEVOEDER – BEMONSTERING

1 PRINCIPE

De bemonstering moet op een zodanige manier uitgevoerd worden dat een representatief monster verkregen wordt.

2 BEMONSTERING VAN KRACHTVOEDERS

De bemonstering kan worden uitgevoerd bij de gebruiker of bij de leverancier of producent van het krachtvoeder.

De bemonstering kan eenvoudig worden uitgevoerd door met een schepje of een recipiënt de deelmonsters te verzamelen.

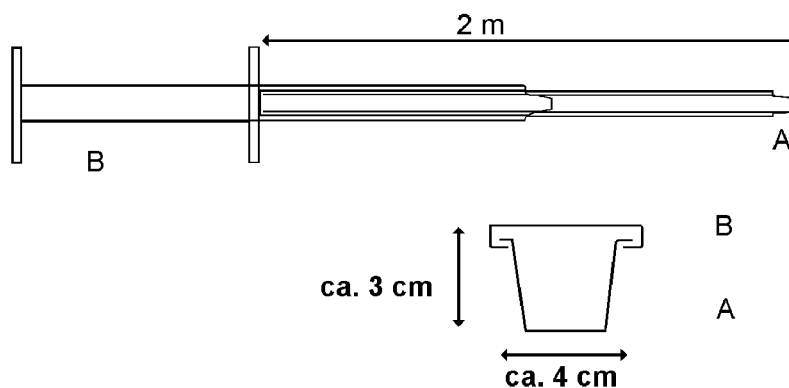
Voor de bemonstering van een partij krachtvoeder worden minimaal 5 deelmonsters genomen gespreid over de volledige partij. Bij verpakte krachtvoerders worden de deelmonsters verzameld uit afzonderlijke verpakkingen.

De deelmonsters bedragen minimaal 500 g en worden gemengd tot een mengmonster. Uit dat mengmonster wordt door middel van kwarteren een laboratoriummonster bereid van minimaal 500 g. Het laboratoriummonster wordt verzameld in een glazen of plastic, goed afsluitbaar recipiënt.

3 BEMONSTERING VAN RUWVOEDERS

3.1 Materiaal

De bemonstering van ruwvoeder geschiedt, bij opslag of bij transport, met behulp van een droge en schone steeklans, bestaande uit een monstergoot en een monsterdeksel (Figuur 5) of een ruwvoederboor, bestaande uit een holle buis met snijkop en een binnenstang.



Figuur 5 steeklans voor de bemonstering van ruwvoeder

3.2 Praktische uitvoering

Met de steeklans of ruwvoederboor worden evenredig verdeeld over de vracht of de stapel opgeslagen ruwvoeder tenminste tien steekmonsters over de volledige diepte genomen.

Een steekmonster met de steeklans wordt genomen door de goot zo diep mogelijk in het ruwvoeder te duwen. Vervolgens wordt de deksel over de goot geschoven en wordt de gehele steeklans uit de vracht ruwvoeder getrokken. De goot wordt geledigd in een droge en schone emmer, bak of kruiwagen.

De met de steeklans genomen steekmonsters worden grondig gemengd. Vervolgens wordt uit dat mengsel een monster genomen van circa 1 liter en overgebracht in een droog en schoon recipiënt (plastic of glas) dat goed kan worden afgesloten.

De bemonstering vindt plaats bij het laden of lossen van een vracht.

4 IDENTIFICATIE VAN DE MONSTERS

De nummering van de monsters moet eenduidig zijn zodat achteraf geen misverstanden kunnen ontstaan m.b.t. de herkomst van de monsters. De volgende informatie moet minimaal op de recipiënten of op een begeleidend formulier aanwezig zijn :

- a. opdrachtgever
- b. type krachtvoeder (+ leverancier of producent met hun erkenningsnummer of registratienummer door het FAVV toegekend) of type ruwvoeder
- c. Diercategorie waarvoor het voeder bestemd is, indien gekend
- d. wijze van monsterneming (bijvoorbeeld schepmonsters) + aantal deelmonsters
- e. geraamd volume van het opgeslagen krachtvoeder/ruwvoeder
- f. monsternemer
- g. plaats en datum van monsternamen
- h. uit te voeren analyses
- i. opmerking indien niet conform compendium wordt bemonsterd

Het monsterbeheersysteem van het laboratorium moet toelaten om achteraf iedere informatie met betrekking tot een individueel monster éénduidig te traceren.

5 MONSTERCONSERVERING TIJDENS HET TRANSPORT

Voor vochtrijke voeders (bijvoorbeeld ruwvoeders en brijbakken) wordt het monster gekoeld bewaard in afwachting van en tijdens transport naar het laboratorium.

BAM/DEEL 2/02 – VEEVOEDER – MONSTERVOORBEHANDELING

1 BEREIDING VAN MONSTERS VOOR ANALYSE

1.1 Doel

De hieronder beschreven werkwijzen hebben betrekking op het voor de analyse gereedmaken van de monsters zoals beschreven in Bijlage II van de verordening (EG) Nr. 152/2009 van de Commissie van 27 januari 2009 tot vaststelling van de bemonsterings- en analysemethoden voor de officiële controle van diervoeders.

Deze monsters worden zodanig voorbereid dat de voor de uitvoering van de analysemethoden afgewogen hoeveelheden homogeen zijn en representatief voor de eindmonsters.

1.2 Voorzorgsmaatregelen

Alle noodzakelijke bewerkingen moeten zodanig worden uitgevoerd dat verontreiniging van het monster en veranderingen in de samenstelling zoveel mogelijk worden vermeden. Het malen, mengen en zeven moet zo snel mogelijk gebeuren onder zo gering mogelijke blootstelling van het monster aan lucht en licht. Vermijd het gebruik van maaltoestellen welke het monster aanmerkelijk kunnen verwarmen. Voor voeders die bijzonder gevoelig zijn voor warmte, wordt malen met de hand aanbevolen. Ook moet er voor gewaakt worden dat het maaltoestel zelf niet de oorzaak van verontreiniging met sporenelementen vormt. Als de bereiding niet kan plaatsvinden zonder dat er duidelijke veranderingen in het vochtgehalte van het monster optreden, moet het vochtgehalte vóór en na de bereiding worden bepaald volgens de methode die is vastgelegd in BAM/deel 2/03 – Veevoeder – Droge stof gehalte.

1.3 Werkwijze

Meng het eindmonster grondig, hetzij mechanisch hetzij met de hand. Verdeel het monster in twee gelijke porties (indien mogelijk met de vierendeelmethode). Bewaar de ene portie in een geschikt schoon en droog vat, dat voorzien is van een luchtdichte stop, en bereid de andere portie, of een representatief deel van ten minste 100 g daarvan, als hieronder is aangegeven.

1.3.1 Voeders die als zodanig gemalen kunnen worden

Zeef, tenzij in de analysemethoden anders is aangegeven, het gehele monster door een zeef met openingen van 1 mm (overeenkomstig aanbeveling ISO R.565), zo nodig namalen. Maal niet te fijn.

Meng het gezeefde monster en verzamel het in een geschikt schoon en droog vat, dat is voorzien van een luchtdichte stop.

1.3.2 Voeders die gemalen kunnen worden na droging

Droog het monster, tenzij in de analysemethoden anders is aangegeven, zo ver dat het vochtgehalte tot 8-12 % is teruggebracht, overeenkomstig de voorlopige droogmethode, zie BAM/deel2/03. Ga dan verder te werk als in punt 1.3.1.

1.3.3 Vloeibare of halfvloeibare voeders

Verzamel het monster in een geschikt schoon en droog vat, dat voorzien is van een luchtdichte stop. Meng het grondig, vlak voor de hoeveelheid voor analyse wordt afgewogen.

1.3.4 Andere diervoeders

Monsters die niet volgens een van de bovenstaande methoden kunnen worden bereid, moeten worden behandeld volgens een andere werkwijze, die zodanig is dat in ieder geval de voor de analyse afgewogen hoeveelheden homogeen zijn en representatief voor de eindmonsters.

1.4 Bewaren van monsters

Bewaar de monsters bij een temperatuur die hun samenstelling niet zal beïnvloeden. Monsters die bestemd zijn voor de analyse van vitaminen of producten die bijzonder gevoelig zijn voor licht moeten worden bewaard in bruine glazen vaten.

2 BEPALINGEN BETREFFENDE IN DE ANALYSEMETHODEN GEBRUIKTE REAGENTIA EN APPARATUUR

Tenzij in de analysemethoden anders is aangegeven, moeten alle reagentia voor analysedoeleinden analytisch zuiver zijn (p.a.). Bij het bepalen van spoorelementen moet de zuiverheid van de reagentia gecontroleerd worden door een blancoproef; afhankelijk van de verkregen uitkomst, kan verdergaande zuivering van reagentia nodig zijn.

Elke in de analysemethoden genoemde handeling waar het gaat om bereiding van oplossingen, verdunning, spoelen of wassen, zonder dat de aard van het gebruikte oplosmiddel is aangegeven, houdt in dat water moet worden gebruikt. Als algemene regel geldt dat water moet zijn gedemineraliseerd of gedestilleerd. In bepaalde gevallen die in de analysemethoden nader worden aangeduid moet het een speciale zuiveringsbehandeling hebben ondergaan. Water dat gebruikt wordt voor de bepaling van spoorelementen moet twee maal worden gedestilleerd in boorsilicaat- of kwartsapparatuur of twee maal zijn behandeld op een ionenwisselaar.

Van de standaardapparatuur, die normaal in de controlelaboratoria aanwezig is, worden slechts speciale instrumenten en toestellen of apparatuur waaraan bijzondere eisen zijn gesteld in de analysemethoden vermeld. Deze moeten schoon zijn, vooral wanneer het gaat om de bepaling van kleine hoeveelheden stof.

3 TOEPASSING VAN ANALYSEMETHODEN EN WEERGAVE VAN DE RESULTATEN

In het algemeen wordt voor de bepaling van elk bestanddeel in diervoeders één analysemethode vastgesteld. Wanneer er meer methoden zijn opgegeven, moet de door het controlelaboratorium gebruikte methode in het analyserapport worden aangegeven.

Het in het analyserapport vermelde resultaat is de gemiddelde waarde uit ten minste twee, op aparte porties van het monster uitgevoerde bepalingen, met voldoende herhaalbaarheid. Het resultaat moet worden opgegeven op de in de methoden vastgelegde wijze, met een passend aantal significante cijfers en waarbij zo nodig rekening wordt gehouden met het vochtgehalte van het eindmonster voor de behandeling.

BAM/DEEL 2/03 – VEEVOEDER – DROGE STOF GEHALTE

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Het voorschrift beschrijft de methode voor de bepaling van het gehalte aan vocht in veevoeders. Dit voorschrift heeft geen betrekking op de analyse van melkproducten als voedermiddelen, van minerale stoffen en mengsels die overwegend uit mineralen bestaan, van dierlijke en plantaardige vetten en van oliehoudende zaden en vruchten. De bepaling van het gehalte aan vocht in dierlijke en plantaardige vetten en oliën wordt beschreven in Bijlage III, B van de verordening (EG) Nr. 152/2009.

2 PRINCIPE

Het monster wordt gedroogd onder bepaalde omstandigheden, die afhankelijk zijn van de aard van het veevoeder. Het gewichtsverlies wordt bepaald door wegen. Bij vaste veevoeders met een hoog gehalte aan vocht is het noodzakelijk eerst voor te drogen.

3 MATERIAAL

3.1 Molen

Molen van een materiaal dat geen vocht absorbeert, die gemakkelijk te reinigen is en waarmee snel en gelijkmatig kan worden gemalen zonder noemenswaardig warmte op te wekken, die zo goed mogelijk kan worden afgesloten van de buitenlucht en voldoet aan de eisen, vermeld in punt 4.1.1 en 4.1.2 (bijvoorbeeld microkruisslagmolens, micromolens met waterkoeling, demonteerbare kogelmolens, langzaam lopende kogelmolens en molens met getande schijven).

3.2 Analytische balans

Analytische balans met een gevoeligheid van ten minste 0,5 mg .

3.3 Vochtdozen

Vochtdozen van roestvast metaal, glas of aluminium met luchtdicht afsluitende deksels en met een zodanig nuttig oppervlak dat het monster kan worden verdeeld naar rata van ongeveer 0,3 g per cm².

3.4 Voordroogrecipiënten

Bijvoorbeeld schaal van aluminium van 20 maal 12 cm met een rand van 0,5 cm of andere geschikte recipiënten.

3.5 Elektrische droogstoof

Elektrische droogstoof met thermostaat ($\pm 1^\circ\text{C}$), waarmee de temperatuur snel kan worden geregeld en die goed ventileert⁴.

3.6 Elektrische vacuümdroogstoof

Elektrische vacuümdroogstoof met thermostaat en oliepomp, voorzien van een inrichting voor toevoer van gedroogde, warme lucht of voorzien van een droogmiddel (bijvoorbeeld calciumoxide).

3.7 Exsicator

Exsicator met dikke, geperforeerde plaat van metaal of porselein en met een effectief droogmiddel.

4 UITVOERING

N.B. : De in dit hoofdstuk beschreven handelingen moeten direct na het openen van de verpakking van de monsters worden uitgevoerd. De analyses moeten ten minste in tweevoud worden uitgevoerd.

4.1 Voorbereiding

4.1.1 Veevoerders met uitzondering van die, vermeld in punt 4.1.2 en 4.1.3

Neem ten minste 50 g. Maak dat, zo nodig, op passende wijze fijn, zodanig dat veranderingen in het vochtgehalte worden voorkomen.

4.1.2 Granen en grutten

Neem ten minste 50 g. Maal dat tot deeltjes van zodanige grootte dat ten minste 50 % ervan door een zeef gaat van 0,5 mm en dat niet meer dan 10 % blijft liggen op een zeef met ronde mazen van 1 mm.

4.1.3 Vloeibare of brijachtige veevoerders, veevoerders die in hoofdzaak bestaan uit vet

Neem ongeveer 25 g, op 10 mg nauwkeurig gewogen, voeg toe een passende hoeveelheid watervrij zand, op 10 mg nauwkeurig gewogen, en meng tot een homogeen product is verkregen.

⁴ Voor het drogen van granen en bijproducten van de verwerking van granen moet de droogstoof een zodanige warmtecapaciteit hebben dat, als ze tevoren is ingesteld op een temperatuur van 131°C , die temperatuur weer binnen 45 minuten na het inzetten van het maximum aantal monsters wordt bereikt. De ventilatie moet zodanig zijn dat, wanneer alle monsters van zachte tarwe, die de stoof bevatten kan, gelijktijdig gedurende 2 h gedroogd worden, de verkregen resultaten minder verschillen dan 0,15 % van die, verkregen na 4 h drogen.

4.2 Drogen

4.2.1 Veevoeders, met uitzondering van die, vermeld in punt 4.2.2 en 4.2.3

Weeg een vochtdoos (3.3) met deksel op 0,5 mg nauwkeurig. Breng ongeveer 5 g van het monster, tot op 1 mg nauwkeurig gewogen, in de getarreeerde vochtdoos en spreid gelijkmatig uit. Plaats de vochtdoos zonder deksel in een vooraf op 105°C gebrachte droogstoof. Om te voorkomen dat de temperatuur teveel daalt, moet de vochtdoos zo snel mogelijk in de droogstoof gebracht worden. Laat gedurende 4 uur drogen, gerekend vanaf het tijdstip dat de stoof weer op een temperatuur van 105°C is.

Sluit na het openen van de stoof de vochtdoos met het deksel, neem haar uit de stoof, laat gedurende 30 à 45 minuten afkoelen in de exsicator (3.7) en weeg tot op 1 mg nauwkeurig.

Monsters, die in hoofdzaak bestaan uit vet, worden nogmaals in de stoof bij 105°C gedroogd gedurende 30 minuten.

Het verschil tussen de resultaten van beide wegingen mag niet meer bedragen dan 0,1 % vocht.

4.2.2 Graan, meel, grutten en gries

Weeg een vochtdoos (3.3) met deksel op 0,5 mg nauwkeurig. Breng ongeveer 5 g van het fijngemaakte monster, tot op 1 mg nauwkeurig gewogen, in de getarreeerde vochtdoos en spreid gelijkmatig uit. Plaats de vochtdoos zonder deksel in een vooraf op 130°C gebrachte droogstoof. Om te voorkomen dat de temperatuur teveel daalt, moet de vochtdoos zo snel mogelijk in de droogstoof gebracht worden.

Laat gedurende 2 uur drogen, gerekend vanaf het tijdstip dat de stoof weer op een temperatuur van 130°C is.

Sluit na het openen van de stoof de vochtdoos met het deksel, neem haar uit de stoof, laat gedurende 30 à 45 minuten afkoelen in de exsicator (3.7) en weeg tot op 1 mg nauwkeurig.

4.2.3 Mengvoeders met een gehalte aan suikers, afkomstig van saccharose of van lactose, van meer dan 4 %, alsmede de volgende enkelvoudige veevoeders : Johannisbroodschroot, gehydrolyseerde graanproducten, moutkiemen, suikerbietensnijdsels, vissolubles, suiker en mengvoeders die meer dan 25 % kristalwaterhoudende minerale zouten bevatten

Weeg een vochtdoos (3.3) met deksel op 0,5 mg nauwkeurig. Breng ongeveer 5 g van het fijngemaakte monster, tot op 1 mg nauwkeurig gewogen, in de getarreeerde vochtdoos en spreid gelijkmatig uit. Plaats de vochtdoos zonder deksel in de vooraf op 80 à 85°C gebrachte vacuümdroogstoof (3.6). Om te voorkomen dat de temperatuur teveel daalt, moet de vochtdoos zo snel mogelijk in de droogstoof gebracht worden. Stel de druk in op 10 cm kwik en droog het monster gedurende 4 uur bij die druk, hetzij onder toevoer van droge, warme lucht, hetzij met behulp van een droogmiddel (ongeveer 300 g voor 20 monsters). In het laatste geval wordt bij het bereiken van de voorgeschreven druk de verbinding met de vacuümpomp verbroken. Reken de droogtijd vanaf het tijdstip dat de droogstoof

weer op een temperatuur van 80 à 85°C is. Laat na het beëindigen van de droogtijd de druk in de stoof voorzichtig weer komen op die van de buitenlucht. Sluit na het openen van de vacuümdroogstoof de vochtdoos met het deksel, neem haar uit de stoof, laat gedurende 30 à 45 minuten afkoelen in de exsiccator (3.7) en weeg vervolgens op 1 mg nauwkeurig. Droog nog gedurende 30 minuten onder vacuum in de stoof bij 80 à 85°C en weeg opnieuw. Het verschil tussen de resultaten van beide wegingen mag niet meer bedragen dan 0,1 % vocht.

4.3 Voordrogen

4.3.1 Veevoeders, met uitzondering van die, vermeld in punt 4.3.2

Vaste veevoeders met een hoog gehalte aan vocht, die moeilijk fijn te maken zijn, worden als volgt voorgedroogd.

Breng 50 g van het ongemalen monster (geperste veevoeders of veevoeders in brokken zo nodig grof breken), op 10 mg nauwkeurig gewogen, in een geschikt recipiënt (3.4). Droog in een stoof bij een temperatuur van 60 à 70°C, totdat het vochtgehalte is teruggebracht tot een waarde gelegen tussen 8 % en 12 %. Neem de recipiënt uit de droogstoof en laat onafgedekt gedurende 1 uur afkoelen in het laboratorium; weeg vervolgens op 10 mg nauwkeurig. Maak het monster onmiddellijk daarna fijn als beschreven onder 4.1.1 en droog, al naar gelang de aard van het monster, als beschreven onder 4.2.1 of 4.2.3.

4.3.2 Granen

Granen met een vochtgehalte van meer dan 17 % moeten als volgt worden voorgedroogd :

Breng 50 g van het ongemalen graan, op 10 mg nauwkeurig gewogen, in een geschikte recipiënt (3.4). Droog in een stoof gedurende 5 à 7 minuten bij een temperatuur van 130°C.

Neem de recipiënt uit de droogstoof en laat onafgedekt gedurende 2 uur afkoelen in het laboratorium; weeg vervolgens op 10 mg nauwkeurig. Maak onmiddellijk daarna fijn als beschreven onder 4.1.2 en droog als beschreven onder 4.2.2.

5 BEREKENING VAN DE RESULTATEN

Het gehalte aan vocht in percenten van het monster wordt weergegeven door de volgende formules :

5.1 Drogen zonder voordrogen

$$(E - m) \times \frac{100}{E}$$

waarin :

E = massa in g van het analysemateriaal, waarvan werd uitgegaan,

m = massa in g van het gedroogde analysemateriaal.

5.2 Drogen met voordrogen

$$\frac{(M'-m) \times M}{M'} + (E-M) \times \frac{100}{E} = 100 \times \left(1 - \frac{Mm}{EM}\right)$$

waarin :

E = massa in g van het analysemateriaal, waarvan werd uitgegaan,

M = massa in g van het analysemateriaal na voordrogen,

M' = massa in g van het analysemateriaal na fijnmaken of malen,

m = massa in g van het gedroogde analysemonster.

5.3 Herhaalbaarheid

Het verschil tussen de resultaten van een bepaling in tweevoud in hetzelfde monster mag niet meer bedragen dan 0,2 % vocht.

6 OPMERKING

Als het monster fijngemaakt moet worden en dat een verandering van het vochtgehalte van het product ten gevolge heeft, dan moeten de analyseresultaten, die betrekking hebben op de bestanddelen van het veevoeder, omgerekend worden op het vochtgehalte van het oorspronkelijke monster.

BAM/DEEL 2/04 – VEEVOEDER – TOTALE FOSFOR

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De bepaling van het gehalte aan totaal fosfor in veevoeders kan uitgevoerd worden volgens de fotometrische methode (veevoeders met een laag gehalte aan fosfor), volgens de gravimetrische methode (producten rijk aan fosfor) of met ICP-AES (NBN EN ISO 11885 :2009)⁵.

Deze procedure beschrijft enkel de manuele spectrofotometrische bepaling.

2 PRINCIPE

Het monster wordt gedestruëerd, hetzij langs natte weg (speciaal bij minerale stoffen en vloeibare veevoeders), hetzij langs droge weg (speciaal bij organische veevoeders) en in zure oplossing gebracht. De oplossing wordt behandeld met vanadaatmolybdaatreagens. De extinctie van de gevormde geelgekleurde oplossing wordt gemeten met behulp van een spectrofotometer bij 430 nm.

3 REAGENTIA

- 3.1 Calciumcarbonaat, CaCO_3 , p.a.
- 3.2 Zoutzuur, HCl , p.a., $d = 1,1$ (ca. 6 N).
- 3.3 Salpeterzuur, HNO_3 p. a., $d = 1,045$.
- 3.4 Salpeterzuur, HNO_3 , p. a., $d = 1,38$ à $1,42$.
- 3.5 Zwavelzuur, H_2SO_4 , p. a., $d = 1,84$.
- 3.6 Vanadaatmolybdaatreagens
meng in een maatkolf van 1 l 200 ml ammoniumheptamolybdaatoplossing (3.7), 200 ml ammoniummonovanadaatoplossing (3.8) en 134 ml salpeterzuur (3.4). Vul aan met water tot de streep.
- 3.7 Ammoniumheptamolybdaatoplossing
los op 100 g ammoniumheptamolybdaat p.a., $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, in warm water. Voeg toe 10 ml ammonia ($d = 0,91$) en vul aan met water tot 1 l.
- 3.8 Ammoniummonovanadaatoplossing
los op 2,35 g ammoniummonovanadaat p. a., NH_4VO_3 , in 400 ml warm water. Voeg langzaam, onder voortdurend roeren, toe 20 ml verdund salpeterzuur (7 ml HNO_3 (3.4) + 13 ml H_2O) en vul aan met water tot 1l.
- 3.9 Fosforstandaardoplossing 1 mg/ml
los op in water 4,387 g kaliumwaterstoffsfaat en vul aan met water tot 1 l.

⁵ NBN EN ISO 11885 :2009 : Waterkwaliteit - Bepaling van geselecteerde elementen met optische emissiespectrometrie met inductief gekoppeld plasma (ICP-OES) (ISO 11885 :2007).

4 APPARATUUR

- 4.1 Verassingschalen van kwarts of porselein.
- 4.2 Elektrische moffeloven met thermostaat, ingesteld op $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$.
- 4.3 Kjeldahlkolven van 250 ml.
- 4.4 Maatkolven en pipetten.
- 4.5 Spectrofotometer.
- 4.6 Reageerbuizen
doorsnede ca. 16 mm, met normaalslijpstuk 14,5; inhoud 25 à 30 ml.

5 UITVOERING

5.1 Bereiding van de oplossing

Bereid de oplossing als beschreven onder 5.1.1 of 5.1.2, afhankelijk van de aard van het monster.

5.2 Algemene werkwijze

Breng 1 g of meer van het monster, tot op 1 mg nauwkeurig gewogen, in een Kjeldahlkolf. Voeg toe 20 ml zwavelzuur (3.5) en zwenk om, ten einde het analysemateriaal goed te bevochtigen met het zuur en vastzitten aan de wand van de kolf te voorkomen. Verhit de kolf en laat gedurende 10 minuten koken. Laat even afkoelen, voeg toe 2 ml salpeterzuur (3.4) en verwarm zacht. Laat weer even afkoelen, voeg opnieuw een weinig salpeterzuur (3.4) toe en breng weer aan de kook. Herhaal die bewerkingen, totdat de oplossing kleurloos is. Laat vervolgens afkoelen, voeg een weinig water toe, breng de vloeistof over in een maatkolf van 500 ml en spoel de Kjeldahlkolf met warm water uit. Laat afkoelen, vul aan met water tot de streep, meng en filtreer.

5.2.1 Werkwijze voor monsters, die organische stoffen bevatten, maar geen calcium - of magnesiumdiwaterstoffsfaat

Breng ongeveer 2,5 g van het monster, tot op 1 mg nauwkeurig gewogen, in een verassingsschaal en meng innig met 1 g calciumcarbonaat (3.1). Veras in de moffeloven bij $550 \pm 25^{\circ}\text{C}$, totdat een witte of grijze as verkregen is (een kleine hoeveelheid koolstof stoort niet).

Breng de as in een bekglas van 250 ml, voeg toe 20 ml water en zoveel zoutzuur (3.2) tot het bruisen ophoudt. Voeg dan nog toe 10 ml zoutzuur (3.2) in overmaat. Plaats het bekglas op een zandbad en damp in tot droog om het kiezelzuur onoplosbaar te maken. Neem het residu op in 10 ml salpeterzuur (3.3) en laat gedurende 5 minuten koken op het zandbad, zonder dat tot droog ingedampt wordt. Spoel de vloeistof over in een maatkolf van 500 ml en was het bekglas meermalen met heet water. Koel af, vul aan met water tot de streep, meng en filtreer.

5.3 Ontwikkelen van de kleur en meten van de extinctie

Verdun een aliquoot deel van het onder 5.1.1 of 5.1.2 verkregen filtraat zo, dat een concentratie aan fosfor verkregen wordt van ten hoogste 40 µg/ml. Pipeteer 10 ml van de oplossing in een reageerbuis met slijsptuk (4.6), voeg toe 10 ml vanadaatmolybdaatreagens (3.6) en meng. Laat gedurende ten minste 10 minuten staan bij 20°C. Meet dan de extinctie met behulp van een spectrofotometer bij 430 nm tegen een oplossing, bestaande uit 10 ml water en 10 ml vanadaatmolybdaatreagens (3.6).

5.4 Ijkgrafiek

Bereid van de standaardoplossing (3.9) oplossingen, die respectievelijk 5, 10, 20, 30 en 40 µg fosfor per ml bevatten. Voeg aan 10 ml van elk van die oplossingen 10 ml vanadaatmolybdaatreagens (3.6) toe en meng. Laat gedurende ten minste 10 minuten staan bij 20°C. Meet dan de extincties onder de omstandigheden als beschreven in 5.2. Stel een ijkgrafiek op, waarbij op de abcis de hoeveelheden fosfor en op de ordinaat de daarbij behorende extinctiewaarden worden uitgezet. Het verloop van de ijkgrafiek is lineair voor concentraties aan fosfor van 0 tot 40 µg fosfor per ml.

6 BEREKENING VAN DE RESULTATEN

Bepaal met behulp van de ijkgrafiek het gehalte aan fosfor in het analysemonster. Druk het resultaat uit in percenten van het monster.

7 HERHAALBAARHEID

Het verschil tussen de resultaten van een bepaling in tweevoud in hetzelfde monster mag niet meer bedragen dan :
3 % relatief bij gehalten van minder dan 5 % fosfor;
0,15 % absoluut bij gehalten van 5 % of meer.

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Met die methode is het mogelijk het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders te bepalen op basis van het stikstofgehalte, bepaald volgens de Kjeldahlmethode.

2 PRINCIPE

Het monster wordt ontsloten met zwavelzuur in aanwezigheid van een katalysator. De zure oplossing wordt met een oplossing van natriumhydroxide basisch gemaakt. De ammoniak wordt overgedestilleerd en opgevangen in een geschikte absorptievloeistof, afhankelijk van de gekozen bepalingstechniek. De bepaling van het ammoniumgehalte kan uitgevoerd worden door :

- a. terugtitratie met een standaardoplossing van natriumhydroxide
- b. volgens NBN EN ISO 11732 :2005 Waterkwaliteit - Bepaling van ammoniakale stikstof door stroomanalyse (CFA en FIA) en spectrometrische detectie (ISO 11732 :1997)
- c. volgens ISO 7150-1 :1984 Water quality - Determination of ammonium - Part 1 : Manual spectrometric method
- d. volgens NEN6604 :2007 Water – Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie

Deze procedure beschrijft de titrimetrische methode.

3 REAGENTIA

- 3.1 Kaliumsulfaat, K_2SO_4 .
- 3.2 Katalysator
koper(II)oxide (CuO) of koper(II)sulfaatpentahydraat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$). Ook andere voor deze bepaling geschikte commercieel beschikbare katalysatoren zijn toegestaan.
- 3.3 Zinkkorrels.
- 3.4 Zwavelzuur $\rho_{20} = 1,84$ g/ml.
- 3.5 Zwavelzuur $c(H_2SO_4) = 0,5$ mol/l.
- 3.6 Zwavelzuur $c(H_2SO_4) = 0,1$ mol/l.
- 3.7 Methylrood-indicator :
300 mg methylrood oplossen in 100 ml ethanol, $\sigma = 95-96$ % (v/v).
- 3.8 Natriumhydroxide-oplossing (m/v : 40%)
(technische kwaliteit is voldoende), $\beta = 40$ g/100 ml (m/v : 40 %).
- 3.9 Natriumhydroxide-oplossing, $c = 0,25$ mol/l.
- 3.10 Natriumhydroxide-oplossing, $c = 0,1$ mol/l.
- 3.11 Puimsteenkorrels, met zoutzuur gewassen en gegloeid.
- 3.12 Acetanilide (sm.p. = 114 °C; N = 10,36 %).
- 3.13 Saccharose (vrij van stikstof).

4 APPARATUUR

Apparatuur, geschikt voor het uitvoeren van ontsluiting, destillatie en titratie volgens de Kjeldahlmethode.

5 WERKWIJZE

5.1 Ontsluiting

Weeg af van het monster 1 g op 0,001 g nauwkeurig en breng dat in de recipiënt van de ontsluitingsapparatuur. Voeg daaraan toe 15 g kaliumsulfaat (3.1), een geschikte hoeveelheid katalysator (3.2) (0,3 tot 0,4 g koper(II)oxide of 0,9 tot 1,2 g koper(II)sulfaatpentahydraat), 25 ml zwavelzuur (3.4) en een paar puimsteenkorrels (3.11); meng het geheel. Verwarm de recipiënt eerst zacht onder af en toe zwenken, indien nodig, totdat de massa is verkoold en het schuim is verdwenen; verhit vervolgens krachtiger totdat de vloeistof regelmatig kookt. De verwarming is voldoende wanneer het kokende zuur tegen de wand van de recipiënt condenseert. Zorg ervoor dat de wand niet oververhit raakt en dat er geen organische stof aan gaat vastzitten. Kook nog twee uur nadat de oplossing helder en lichtgroen geworden is, laat afkoelen.

5.2 Destillatie

Voeg genoeg water toe om de sulfaten volledig op te lossen. Laat afkoelen, voeg enkele zinkkorrels (3.3) toe.

Breng in de opvangkolf van de destillatieapparatuur een nauwkeurig afgemeten hoeveelheid van 25 ml zwavelzuur (3.5 of 3.6), afhankelijk van het verwachte stikstofgehalte. Voeg enkele druppels methylood (3.7) toe.

Verbind de ontsluitingsrecipiënt met de koeler van het destillatieapparaat en zorg ervoor dat het uiteinde van de koelbuis zich ten minste 1 cm onder het vloeistofoppervlak in de opvangkolf bevindt (zie opmerking 8). Giet langzaam 100 ml natriumhydroxideoplossing (3.8) in de ontsluitingsrecipiënt, zonder ammoniakverlies (zie opmerking 8).

Verwarm de recipiënt totdat alle ammoniak overgedestilleerd is.

5.3 Titratie

Titreer de overmaat zwavelzuur in de opvangkolf terug met natriumhydroxideoplossing (3.9 of 3.10) afhankelijk van de concentratie van het gebruikte zwavelzuur, totdat het eindpunt is bereikt.

5.4 Blancoproef

Voer een blancoproef (ontsluiting, destillatie en titratie) uit met 1 g saccharose (3.13) in plaats van het monster.

6 BEREKENING VAN DE RESULTATEN

Bereken het gehalte aan ruw eiwit in % met behulp van de volgende formule :

$$\frac{(V_0 - V_1) \times c \times 0,014 \times 100 \times 6,25}{m}$$

waarin :

V_0 = volume (in ml) NaOH (3.9 of 3.10) verbruikt in de blancoproef

V_1 = volume (in ml) NaOH (3.9 of 3.10) verbruikt bij de titratie van het monster

c = concentratie (mol/l) natriumhydroxide (3.9 of 3.10)

m = massa (in g) van het monster.

7 VALIDATIE VAN DE METHODE

7.1 Herhaalbaarheid

Het verschil tussen de resultaten van twee parallele, op hetzelfde monster verrichte bepalingen mag niet meer bedragen dan :

- 0,2 % absoluut voor ruw-eiwitgehalten van minder dan 20 %;
- 1,0 % relatief ten opzichte van de hoogste waarde voor ruweiwitgehalten van 20 % tot 40 %;
- 0,4 % absoluut voor ruw-eiwitgehalten van meer dan 40 %.

7.2 Nauwkeurigheid

Voer de bepaling (ontsluiting, destillatie en analyse) uit op 1,5 tot 2,0 g acetanilide (3.12) in aanwezigheid van 1 g saccharose (3.13); 1 g acetanilide verbruikt 14,80 ml zwavelzuur (3.5).

Er moet ten minste 99 % teruggevonden worden.

8 OPMERKINGEN

De apparatuur kan tot het manuele, halfautomatische of automatische type behoren. Indien de ontsluitingsvloeistof tussen ontsluiting en destillatie overgebracht moet worden, mag er geen verlies optreden. Indien de recipiënt van de destillatieapparatuur niet voorzien is van een druppeltrechter, moet de natriumhydroxide-oplossing langzaam langs de wand toegevoegd worden, onmiddellijk voordat de recipiënt met de koeler wordt verbonden.

Herhaal de bepaling met een grotere hoeveelheid zwavelzuur (3.4) dan hoger vermeld, wanneer het materiaal tijdens het ontsluiten vast wordt.

Bij monsters met een laag stikstofgehalte kan het volume zwavelzuur (3.6) dat in de opvangkolf wordt gebracht zo nodig worden verminderd tot 10 of 15 ml en met water tot 25 ml worden aangevuld.

BAM/DEEL 2/20 – VEEVOEDER – RAPPORTERING

De volgende gegevens moeten vermeld worden op het analyserapport :

1 ALGEMEEN

- a. Briefpapier van het laboratorium met minimaal vermelding van naam, adres, telefoon, fax, e-mail
- b. Uniek rapportnummer
- c. Uniek nummer staal en nummer staal toegekend door de mestbank (indien van toepassing)
- d. Datum van de analyse
- e. Datum verzending rapport
- f. Naam en handtekening van de verantwoordelijke van het laboratorium (mag eventueel digitaal)
- g. Naam en adres van degene aan wie het rapport bezorgd wordt
- h. Gebruikte methode of verwijzing naar gebruikte methode

2 BETREFFENDE DE STAALNAME

- a. Naam van de staalnemer. Indien het laboratorium specifieke identificatienummers hanteren voor hun staalnemers, worden die eveneens op het verslag vermeld.
- b. Indien het staal niet genomen werd door een staalnemer verbonden aan het laboratorium, moet dat uitdrukkelijk vermeld worden in het analyserapport.
- c. Datum van de staalname
- d. Opdrachtgever aanwezig bij de staalname (J/N)
- e. Omschrijving van de plaats van staalname (bijvoorbeeld loods, verpakking, transport, ...)

3 ALGEMENE INLICHTINGEN BETREFFENDE DE AARD VAN HET STAAL :

- a. Het type krachtvoeder (+ leverancier of producent met hun erkenningsnummer of registratienummer door het FAVV toegekend) of type ruwvoeder
- b. Diercategorie waarvoor het voeder bestemd is, indien gekend

4 EENHEDEN

Droge stof : in %
Eiwitgehalte : in %
Totale fosfor : in %

BAM/DEEL 3/00 – VLOEIBARE DIERLIJKE MEST – TOEPASSINGSGEBIED

De methoden hebben betrekking op de bemonstering en analyse van vloeibare dierlijke mest zoals voorzien in het decreet van 22 december 2006 houdende de bescherming van water tegen verontreiniging door nitraten uit agrarische bronnen (hierna het Mestdecreet te noemen) en zijn uitvoeringsbesluiten :

Onder dierlijke mest wordt zowel ruwe, onbehandelde dierlijke mest verstaan als dierlijke mest of fracties van dierlijke mest die een behandeling ondergaan hebben.

Het uitvoerend laboratorium moet erop toezien dat de bemonstering en analyse steeds volgens de hieronder beschreven methodologie gebeurt en draagt daarvoor ook de verantwoordelijkheid.

BAM/DEEL 3/01 – VLOEIBARE DIERLIJKE MEST – BEMONSTERING

1 PRINCIPE

De monsternamen moet op een zodanige manier uitgevoerd worden dat een representatief monster verkregen wordt.

De bemonstering van vloeibare dierlijke mest kan zowel gebeuren vanuit de opslag (mestkelder) als bij het transport.

2 HYGIËNEMAATREGELEN

Bij bemonstering op een landbouwbedrijf of bij een verwerkingsinstallatie moeten de sanitaire voorschriften in opdracht van de landbouwer resp. uitbater worden nageleefd (bijvoorbeeld laarzen door ontsmettend bad, gebruik van overalls ter plaatse, douchen,...).

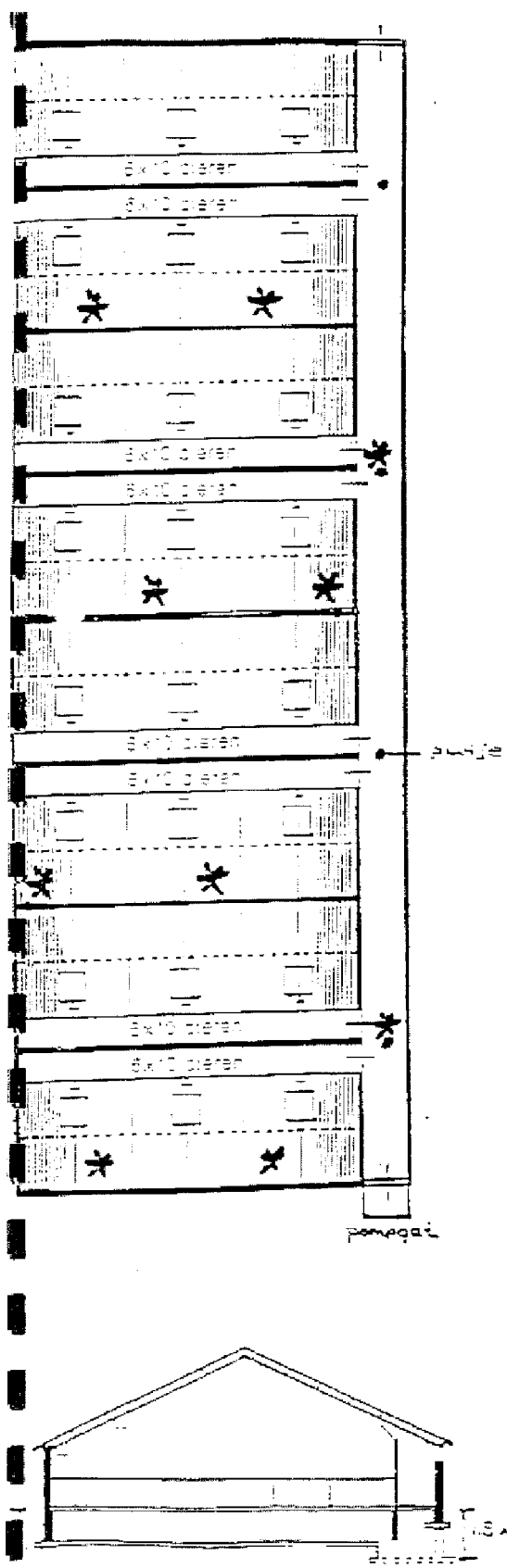
Indien met eigen beschermkledij gewerkt wordt, moet een zuivere overall gebruikt te worden. Bij gebruik van eigen laarzen moeten die proper gespoten te worden met zuiver water en eventueel een ontsmettend middel.

De bemonsteringsapparatuur moet bij het betreden van het landbouwbedrijf steeds volledig zuiver zijn.

3 BEMONSTERING VAN EEN OPSLAG (MESTKELDER)

Tijdens de opslag van vloeibare dierlijke mest in de mestkelder treedt ontmenging op. Bij rundveemest ontstaat een drijfslaag, terwijl bij varkens- en kippenmest een bezinksellaag wordt gevormd. Om tot een homogene partij vloeibare dierlijke mest te komen worden roer- of menginstallaties gebruikt. Tijdens het mengen kunnen gassen vrijkomen die in de mest worden gevormd tijdens de opslag. Sommige daarvan zijn giftig (H_2S) of ontvlambaar (CH_4). Bij het mengen in een gesloten ruimte ontstaat er gevaar voor verstikking of explosie. Een maximale ventilatie is daarom absoluut noodzakelijk. Verblijf tijdens het mengen niet in de nabijheid van het pompgat of slecht verluchte ruimtes in de stal. Op vele varkensbedrijven ontbreken menginstallaties omdat een goede ventilatie moeilijk realiseerbaar is en er meestal ook geen problemen zijn bij het oppompen van de mest in de vacuümtank.

Er wordt aanbevolen om voorafgaand aan de bemonstering de mestkelder te mengen en vervolgens 5 deelmonsters te nemen verspreid over de kelder. Enkel als het mengen onmogelijk is, kan de volgende werkwijze voor bemonstering worden gehanteerd en moeten er 10 deelmonsters worden genomen over de volledige diepte van de mestkelder (- 20 cm) om zodoende ook een representatief mengmonster te kunnen verzamelen. De plaatsen waar bemonsterd moet worden en het aantal deelmonsters dat gestoken moet worden is o.a. afhankelijk van de volgende factoren :

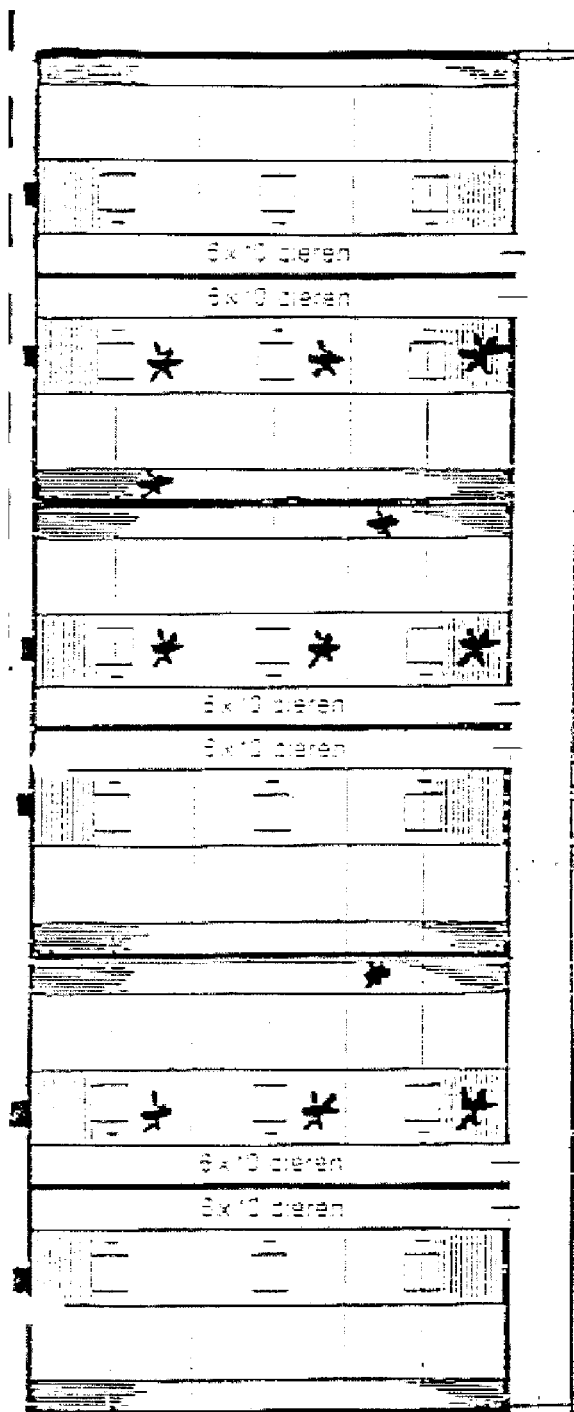
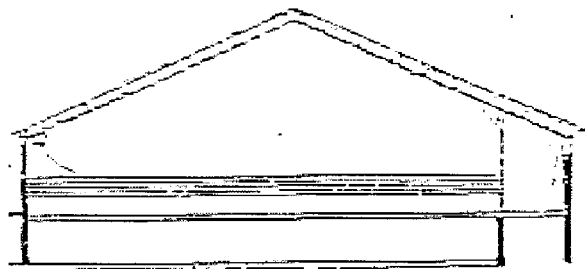


- huisvestingssysteem
- aantal afdelingen
- putopbouw
- verhouding inhoud put onder afdelingen/centrale gang
- mogelijkheden tot bemonstering (i.v.m. dichte vloeren)
- plaats drinknippels
- schroputjes, uitmonden WC in put, plaatselijke korstvorming
- te verwachten droge stofgehalte van de mest
- plaats van afzuigpunten (pompgaten)
- meest recente afvoerdatum i.v.m. stroming

Uit voorgaande punten blijkt dat de bemonstering per bedrijf kan verschillen. Toch zijn er voor gangbare typen varkensstallen richtlijnen aan te geven om een zo representatief mogelijk monster te nemen. Dit is gedaan aan de hand van plattegronden en beperkt tot twee varkensstallen, daar de werkwijze bij het monsternemen voornamelijk wordt bepaald door het staltype en veel minder door de diersoort. In rundveestallen is het goed mixen van de mest bepalend voor de representativiteit van het monster, veel meer dan de plaats waar bemonsterd wordt.

Bemonsteringsmethode :

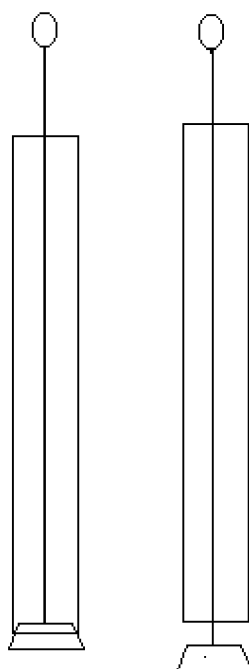
- 4 afdelingen bemonsteren, telkens één overslaan
- laatste afdeling niet bemonsteren omdat daar de mest hoogstwaarschijnlijk dikker is
- 2 steekmonsters per afdeling, twee uit centrale gang
- niet te dicht bij drinknippels steken
- letten op gewichtsklassen van de dieren in de verschillende afdelingen



Bemonsteringsmethode :

- in principe per afdeling een apart monster nemen. Indien in meer dan één afdeling dieren worden gehouden van dezelfde leeftijd :gewicht e.d. dan is het mogelijk die afdelingen in één monster te betrekken.
- 4 steekmonsters per afdeling, waarbij het steekmonster boven het noodrooster apart wordt beoordeeld.
- niet te dicht bij de drinknippels steken.
- letten op gewichtsklasse van de dieren in de verschillende afdelingen.

De bemonstering wordt uitgevoerd doorheen de roosteropeningen in de stal. Bemonstering via het pomp gat wordt sterk afgeraden omdat in die zone meestal een sterke ontmenging wordt vastgesteld. Voor de bemonstering van een mestkelder maakt men bij voorkeur gebruik van PVC of plexiglas buizen. De aanbevolen diameter stemt overeen met de gebruikelijke roosteropening in resp. varkens- en rundveestallen. Voor het overgrote deel volstaan buizen met een lengte van 2 m. Voor buizen met een kleine diameter volstaat het dat de bovenzijde van de buis kan worden afgesloten met een stop om het terugvloeien van de mest te voorkomen. Buizen met een grote diameter moeten langs de onderzijde worden afgesloten. Dit kan gebeuren door een rubber stop die met een stevige draad kan worden aangetrokken. Het geheel is schematisch weergegeven in Figuur 6.



Figuur 6 : Steekbuis voor bemonstering van mest in een mestkelder

Voor de bemonstering van de mest in de mestkelder wordt de buis (niet afgesloten) door de roosteropening tot op de bodem van de put gestoken. Dit moet langzaam gebeuren zodat alle lagen in de put bemonsterd worden. Haal de buis ongeveer 20 cm omhoog en sluit de buis af door met de draad de stop in de buisopening te trekken. (voor dunne buizen volstaat het de bovenzijde af te sluiten). Trek de buis uit de put en ledig ze in een verzamelemmer. Het onderste gedeelte van de put (ongeveer 20 cm) moet niet bemonsterd worden omdat de laatste rest gewoonlijk niet uit de put wordt opgezogen. Indien de mestkelder meer dan 2 meter diep is, wordt de volledige lengte van de buis (2 m) gebruikt voor bemonstering. In voorkomend geval kan voor de bemonstering in een mestkelder ook gebruik worden gemaakt van een vloeistoflagenmonsternemer. Dit toestel heeft echter een diameter van 35 mm zodat alleen toepassing in rundveestallen mogelijk zal zijn. Anderzijds heeft dat toestel het voordeel dat het kan worden voorzien van een zuiger zodat men grotere zekerheid heeft omtrent de representativiteit van het genomen monster in functie van de eventuele gelaagdheid van de mestkelder.

In de omgeving van drinknippels of plaatsen waar veel spoel- of reinigingswater in de put komt wordt in principe niet bemonsterd.

De bemonsterde mest in de verzamelemmer wordt nadien zorgvuldig gemengd en daaruit wordt een mengmonster samengesteld van ongeveer 500 ml. Het mengmonster wordt verzameld in een plastic of glazen recipiënt dat goed kan afgesloten worden en bestand is tegen enige overdruk.

4 BEMONSTERING BIJ TRANSPORT

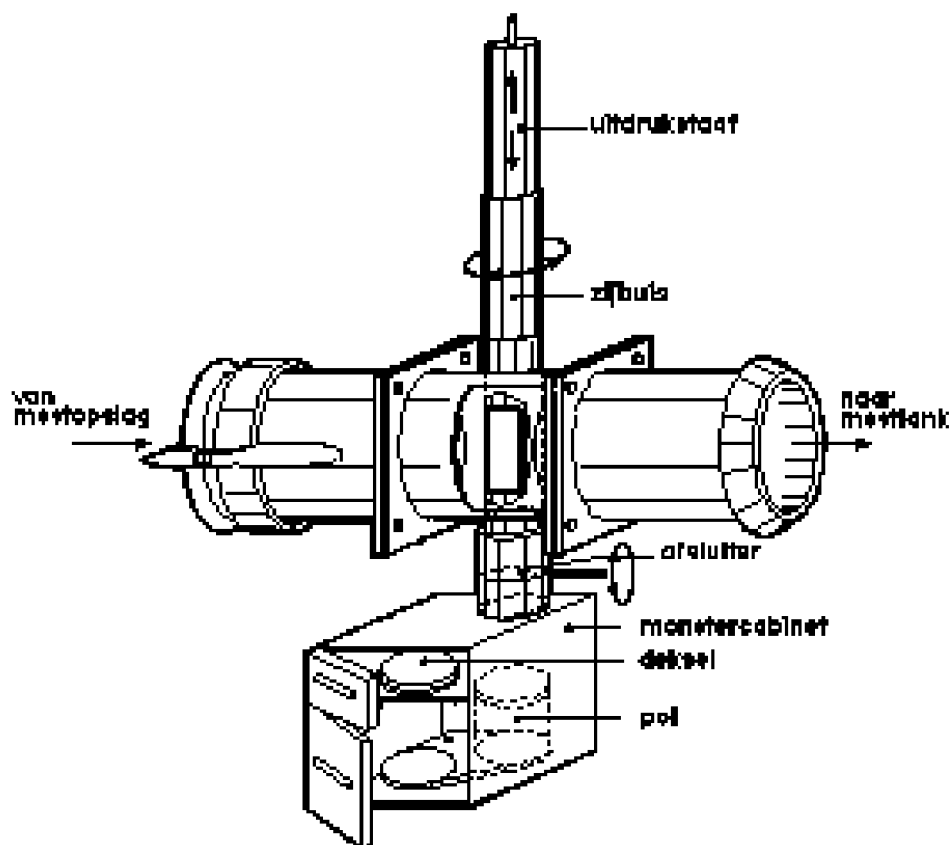
De bemonstering vindt plaats bij het laden of lossen van een vracht.

4.1 Praktische uitvoering

De bemonstering geschiedt door het handmatig of geautomatiseerd nemen van een tapmonster met behulp van een bemonsteringsapparaat van het zijbuisstype zoals weergegeven in Figuur 7. Door een draaiende beweging neemt een holle, gedeeltelijk opengewerkte buis een portie mest uit de meststroom van of naar de transporttank. Na het openen van de afsluiter onderaan de buis drukt de uitdrukstaaf de mest in de monsterverpakking.

Bij het handmatig nemen van een monster worden de bedieningshandels in de beginpositie gezet, dat is de uitdrukstaaf opgetrokken, de zijbuis met de opening van de meststroom afgewend en de kogelkraan gesloten. Onder de uitstroomopening wordt een monsterpot geplaatst. De zijbuis wordt een hele slag rond gedraaid tegen de stroomrichting van de mest in. De kogelkraan wordt geopend en de uitdrukstaaf wordt volledig naar beneden bewogen. Vervolgens wordt de uitdrukstaaf opgetrokken en de kogelkraan gesloten.

Het tapmonster wordt genomen door regelmatig verdeeld over de laadtijd, dan wel lostijd van de tankwagen, vijfmaal een hoeveelheid van circa 100 ml af te tappen uit de vracht door middel van het bemonsteringsapparaat. Bij bemonstering van tanks zonder interne menging moet de eerste dikke fractie worden vermeden. Gedurende de bemonstering zijn alle andere in-en/ of uitstroomopeningen noodzakelijkerwijs gesloten.



Figuur 7 : Zijbuisapparaat voor bemonstering van mest bij transport

Het tapmonster wordt opgevangen in een droge en schone polyetyleen monsterpot van 750 ml tot 1 liter die goed kan worden afgesloten en bestand is tegen enige overdruk. Het monster van ± 500 ml wordt representatief geacht voor de getransporteerde vracht mest. Het monster wordt koel bewaard (bijvoorbeeld in een koelbox) in afwachting van transport naar het laboratorium.

Indien geen zijbuisapparaat voor bemonstering aanwezig is, wordt het monster pas genomen nadat een gedeelte van de tank is uitgereden. De bemonstering gebeurt door, na uitrijden van een strook waarbij mesttoediening gebeurt, ofwel aan de uitloop mest op te vangen in een emmer ofwel de tank zelf te bemonsteren via de daartoe voorziene aftapkraan of monsternemer. Deze werkwijze wordt 2 maal herhaald om tenslotte een mengmonster aan te maken waaruit het laboratoriummonster wordt genomen.

5 IDENTIFICATIE VAN DE MONSTERS

De nummering van de monsters moet eenduidig zijn zodat achteraf geen misverstanden kunnen ontstaan m.b.t. de herkomst van de monsters.

De volgende informatie moet minimaal op de recipiënten of op een begeleidend formulier aanwezig zijn :

- opdrachtgever
- type mest (bijvoorbeeld zeugenmengmest, vleesvarkensmengmest, kalvergier, ...)
- wijze van monsterneming bij bemonstering bij transport : met zijbuisapparaat – manueel na uitrijden – via aftapkraan

- d. plaats van monsterneming (bijvoorbeeld kelder, silo,...) bij bemonstering van een opslag
- e. monsternemer
- f. plaats en datum van monsternamen
- g. uit te voeren analyses
- h. opmerking indien niet conform compendium wordt bemonsterd

Het monsterbeheersysteem van het laboratorium moet toelaten om achteraf iedere informatie met betrekking tot een individueel monster éénduidig te traceren.

6 MONSTERCONSERVERING TIJDENS HET TRANSPORT

Het monster wordt onmiddellijk na de bemonstering gekoeld bewaard in afwachting van en tijdens transport naar het laboratorium.

In geval van ammoniumstikstof bepaling moet het monster binnen de 24 uur na monsternamen afgeleverd worden aan het laboratorium.

In geval van totale stikstof en totale fosfor bepaling moet het monster binnen de 7 dagen na monsternamen afgeleverd worden aan het laboratorium.

BAM/DEEL 3/02 – VLOEIBARE DIERLIJKE MEST – MONSTERVOOR- BEHANDELING DOOR HOMOGENISEREN

1 PRINCIPE

Deze methode beschrijft een procedure voor het homogeniseren van monsters van vloeibare dierlijke mest, met een droge-stofgehalte kleiner dan 30 %. Hierbij wordt uitgegaan van ruwe monsters met een volume van 0.5 l tot 0.8 l, verkregen door bemonstering van mestopslag tanks, mestvervoertanks enz.

Het monster wordt, na eventuele toevoeging van water, gehomogeniseerd door een snel draaiend mes van een zodanige constructie dat een optimale menging wordt verkregen. Het homogeniseren geschiedt met een robuuste staafmixer met een regelbare rotatiesnelheid en voorzien van een gesloten schacht (stator) waarbinnen de rotor zich beweegt. De verdunningsfactor wordt bepaald.

2 BEWARING VAN HET MONSTER VOOR ANALYSE

- a. Om omzettingen in de monsters te vermijden, moeten ze altijd koel bewaard worden (bij een temperatuur van maximum 4°C).
- b. In het geval van ammoniumstikstof bepaling moet het monster ten laatste de dag na monsternamen in bewerking genomen worden voor analyse.
- c. In het geval van totale stikstof en totale fosfor bepaling moet het monster ten laatste de zevende dag na monsternamen in bewerking genomen worden voor analyse.

3 REAGENTIA

Gebruik uitsluitend reagentia van analytisch zuivere kwaliteit.

4 MATERIAAL

Het gebruikelijke laboratoriumglaswerk en tevens :

- 4.1 Staafmixer met een regelbare rotatiesnelheid van ten minste 10 000 omwentelingen per minuut, voorzien van een gesloten schacht (stator) waarbinnen de rotor zich beweegt. De staafmixer moet zijn voorzien van een lagerblok, een statoropzet en een rotormes met vier snijkanten op verschillende hoogte. Een geschikte variant mag gebruikt worden.
- 4.2 Afsluitbare kunststof fles.
- 4.3 Balans, met een nauwkeurigheid van ten minstens 0.1 g.

5 WERKWIJZE

Neem een monster van ten minste 500 ml in bewerking. Verwijder mestvreemde voorwerpen.

5.1 Monsters met een geschat droge-stofgehalte kleiner dan 15%

Plaats de monsterfles onder de staafmixer, waarbij het rotormes zich op circa 3 cm van de bodem van de monsterfles bevindt. Homogeniseer het monster met een zo groot mogelijke rotatiesnelheid met dien verstande dat, rekening houdende met de soort dierlijke mest, overmatige schuimvorming wordt vermeden. Om de homogenisatie te optimaliseren kan de staafmixer tijdens het homogeniseren verticaal heen en weer worden bewogen.

Na het homogeniseren wordt de monsterfles gesloten. Bewaar het monster bij een temperatuur lager dan 4°C indien het monster niet dezelfde dag verder in behandeling wordt genomen.

5.2 Monsters met een geschat droge-stofgehalte van ten minste 15%

Weeg een kunststof fles tot op 0,1 g nauwkeurig (massa m_0).
Breng het monster kwantitatief over in de fles met een tot op 0.1 g gewogen hoeveelheid water (m_1). Weeg de kunststof fles met monster en het toegevoegde water (m_2). Handel verder zoals hierboven beschreven is.

6 BEREKENING VAN DE VERDUNNINGSFACITOR

Bij verdere bepalingen, uitgevoerd op dat monster, moet de verdunningsfactor in de uiteindelijke berekeningen worden opgenomen.

6.1 Monsters met een geschat droge-stofgehalte kleiner dan 15%

De verdunningsfactor $F = 1$.

6.2 Monsters met een geschat droge-stofgehalte van ten minste 15%

Bereken de verdunningsfactor (F) met de vergelijking

$$F = \frac{m_2 - m_0}{m_2 - m_1 - m_0}$$

Waarin :

F is de verdunningsfactor

m_0 is de massa van de lege kunststof fles in g;

m_1 is de massa van de toegevoegde hoeveelheid water, in g;

m_2 is de massa van de kunststof fles met monster en water, in g.

Rond de uitkomst af op 3 decimalen.

7 REFERENTIE

NEN 7430 :1998 Dierlijke mest en mestproducten - Monstervoorbehandeling door homogeniseren – Drijfmest

BAM/DEEL 3/03 – VLOEIBARE DIERLIJKE MEST – DROGE STOF GEHALTE

1 TOEPASSINGSGEBIED

Het droge stof gehalte (t.o.v. vers materiaal) moet bepaald worden om de omrekening naar vers materiaal mogelijk te maken bij de bepaling van totale fosfor. De methode is van toepassing op monsters voorbehandeld zoals beschreven in BAM/deel 3/02.

2 PRINCIPE

Het drogen van een vooraf vastgelegde hoeveelheid gehomogeniseerd monster bij een temperatuur van $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ gedurende een vastgelegde tijd.

3 APPARATUUR EN MATERIAAL

- 3.1 Droogkroezen of andere geschikte recipiënten
- 3.2 Droogstoof, mechanisch geventileerd, ingesteld op een temperatuur van $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$
- 3.3 Exsiccator
- 3.4 Balans met een nauwkeurigheid van 0.001 g.
- 3.5 Pipet van 50 ml met brede uitstroomopening of een maatschepje van 50 ml. Het juiste volume is niet van belang.

4 WERKWIJZE

- a. Het nemen van een testportie moet gebeuren onmiddellijk na de voorbehandeling zoals beschreven in BAM/deel 3/02 zodat een homogeen monster kan worden genomen.
- b. Kroesjes (3.1) worden voorbehandeld door drogen bij $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ (3.2) en vervolgens afgekoeld in een exsiccator (3.3).
- c. Het lege kroesje wordt gewogen (m_0).
- d. Met een maatschep of een pipet (3.5) met brede uitstroomopening wordt 50 ml gehomogeniseerd monster in een getarreed kroesje gebracht. Opnieuw wegen (m_1). De bepaling wordt in duplo uitgevoerd.
- e. Kroesjes in de vooraf verwarmde droogstoof (3.2) brengen. Drogen gedurende 24 uur bij $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
- f. Kroesjes uit de droogstoof nemen en in een exsiccator laten afkoelen tot omgevingstemperatuur.
- g. Opnieuw wegen (m_2)

5 OPMERKINGEN

- a. Wegingen gebeuren tot op 1 mg nauwkeurig
- b. Het verschil tussen beide bepalingen mag niet meer als 10% bedragen

6 BEREKENINGEN

$$DS = F \times \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 1000$$

met

DS droge stof gehalte in kg/1000 kg VM

F verdunningsfactor zoals bepaald volgens BAM/deel 3/02

m_0 massa lege kroes in g

m_1 massa kroes + monster voorbehandeld volgens BAM/deel 3/02 in g

m_2 massa kroes + droog monster in g

7 REFERENTIE

NEN 7432 :1998 Dierlijke mest en mestproducten – Bepaling van de gehalten droge stof en organische stof – Gravimetrische methode

BAM/DEEL 3/04 – VLOEIBARE DIERLIJKE MEST – TOTALE FOSFOR

1 PRINCIPE

Het monster wordt verast bij 550°C, vervolgens wordt de as opgelost in HNO₃. De bepaling van fosfor in de oplossing gebeurt spectrofotometrisch of met ICP-AES (NBN EN ISO 11885 :2009).⁶ Deze procedure beschrijft enkel de manuele spectrofotometrische bepaling.

2 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering van de vloeibare dierlijke mest wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 3/01.

De monstervoorbehandeling wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 3/02.

3 APPARATUUR EN MATERIAAL

- 3.1 Verassingsschalen
- 3.2 Oven ingesteld op 550°C ± 25°C
- 3.3 Exsiccator
- 3.4 Verwarmplaat
- 3.5 Asvrij filtreerpapier
- 3.6 Spectrofotometer, ingesteld op een golflengte van 880 nm

4 REAGENTIA

- 4.1 Ascorbinezuuroplossing, 0.57 mol/l :
los 10 g ascorbinezuur (C₆H₈O₆) op in 100 ml water. De oplossing moet kleurloos zijn en is 2 weken houdbaar als ze koel en in een donkere fles gestockeerd wordt.
- 4.2 Ascorbinezuur, 0.23 mol/l :
verdun 40 ml oplossing (4.1) tot 100 ml. Bereid dagelijks een verse oplossing.
- 4.3 Zwavelzuur, (H₂SO₄), 18 mol/l
- 4.4 Ammoniumheptamolybdaattetrahydraat ((NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O), p.a.
- 4.5 Antimoonkaliumtartraathemihydraat (K(SbO)C₄H₄O₆·1/2H₂O), p.a.
- 4.6 Kaliumdiwaterstoffosfaat (KH₂PO₄), p.a.

⁶ NBN EN ISO 11885 :2009 : Waterkwaliteit - Bepaling van geselecteerde elementen met optische emissiespectrometrie met inductief gekoppeld plasma (ICP-OES) (ISO 11885 :2007).

4.7 Ammoniumheptamolybdaattetrahydraat-oplossing, 0.02 mol/l :

voeg aan 150 ml water voorzichtig 120 ml zwavelzuur (4.3) toe. Meng en laat afkoelen. Los 13g ammoniumheptamolybdaattetrahydraat $((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ (4.4) op in ongeveer 100 ml water en voeg bij de eerste zwavelzuuroplossing. Los 0.35 g antimoontartraathemihydraat $(\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O})$ (4.5) op in ± 100 ml water en voeg dat bij de andere oplossing. Leng aan tot 500 ml en meng. Bewaard in het donker is die oplossing minstens 2 maanden houdbaar.

4.8 Stockoplossing fosfor, 50 mg P/l :

droog kaliumdiwaterstoffosfaat (KH_2PO_4) (4.6) bij 105°C tot constant gewicht. Laat afkoelen in een exsiccator. Los 0.220 g kaliumdiwaterstoffosfaat op in 1 l water. Koel bewaard is die oplossing minstens 1 week houdbaar.

4.9 Standaard fosfor, 5 mg P/l :

leng 10 ml fosfor stockoplossing (4.8) aan tot 100 ml met water. Bereid dagelijks vers.

4.10 HNO_3 , 14 mol/l

4.11 HNO_3 , 1 mol/l

5 WERKWIJZE

5.1 Destructieprocedure

- Weeg 1 à 2.5 g droog monster tot op 1 mg nauwkeurig (m).
- Veras dat monster bij 550°C (3.2) gedurende 4 uur. De as moet grijswit zijn.
- Indien de as niet wit kleurt : enkele druppels HNO_3 (4.10) toevoegen en nogmaals verassen gedurende 1 uur.
- Breng de as kwantitatief over in een beker van 100 ml met 20 ml HNO_3 1M (4.11).
- 1 uur laten digesteren op een verwarmplaat (3.4) of in een warmwaterbad
- Filtreren (3.5). Filtraat opvangen in een maatkolf van 100 ml en de filter goed spoelen met 1M HNO_3
- Aanlengen tot 100 ml met 1M HNO_3 (4.11)
- Meestal is verdere verdunning noodzakelijk.

5.2 Spectrofotometrische bepaling

- Voor de kalibratie : pipetteer 0, 1, 2, 3, 4 en 5 ml fosforstandaard (4.9) in maatkolven van 50 ml. Dit komt overeen met 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 en 0.5 mg P/l. Voor de monsteroplossingen : pipetteer 10 ml monsteroplossing in een kolffje van 50 ml
- Voeg 1 ml ascorbinezuuroplossing (4.2) toe, meng en laat een halve minuut staan.
- Voeg 2 ml ammoniummolybdaatoplossing (4.7) toe, leng aan met water en meng.
- Meet na 20 minuten de intensiteit bij 880 nm (3.6) en noteer de meetwaarde (E_1).
- Voer ook een blancobepaling uit. Dit geeft de waarde E_0 .

6 BEREKENINGEN

Er wordt uitgegaan van een lineair verband tussen de intensiteit en de concentratie. De kalibratie wordt berekend met lineaire regressie. Dit geeft als vergelijking : $y = ax + b$

Met a : helling van de rechte

b : het snijpunt met de Y-as of intercept.

Met die vergelijking kunnen de concentraties van de onbekenden berekend worden. Er wordt blancocorrectie uitgevoerd door de intensiteit van de blanco af te trekken van de intensiteit van het monster. Om de concentratie in het oorspronkelijk deestruaat te kennen moeten alle verdunningen in rekening worden gebracht : 5 voudige verdunning bij de spectrofotometrische bepaling en eventuele bijkomende verdunningen.

De verkregen fosforconcentratie wordt omgerekend naar een concentratie C_P (kg $P_2O_5/1000$ kg) in vers materiaal met de volgende formule.

$$C_P = \frac{C_l \times 5 \times f \times 0.1}{m} \times DS \times 2.29$$

met VM	C_P	concentratie fosfor in het oorspronkelijk monster in kg $P_2O_5/1000$ kg
	C_l	concentratie verkregen uit de ijklijn na blancocorrectie in mg P/l
	f	eventuele verdunningsfactor
	DS	droge stof gehalte bepaald volgens BAM/deel 3/03
	m	massa droog monster dat in bewerking werd genomen in g

7 OPMERKINGEN

- Deze procedure beschrijft de manuele spectrofotometrische bepaling van fosfor. Er bestaan talrijke varianten op die bepalingmethode evenals geautomatiseerde technieken.
- Deze spectrofotometrische bepaling is in staat lage concentraties fosfor te bepalen. Aangezien de fosforconcentraties in mest veel hoger zijn, moet er sterk worden verdund wat een bijkomende fout introduceert. Als alternatief kan de Scheel methode gebruikt worden die veeleer geschikt is voor hoge concentraties.

BAM/DEEL 3/05 – VLOEIBARE DIERLIJKE MEST – AMMONIUMSTIKSTOF

1 PRINCIPE

Als de bepaling van ammonium titrimetrisch na stoomdestillatie gebeurt kan die rechtstreeks op het gehomogeniseerde monster worden uitgevoerd.

Voor de spectrofotometrische bepalingsmethode is een uitloging van het monster vereist.

2 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering van de vloeibare dierlijke mest wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 3/01.

De monstervoorbehandeling wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 3/02.

3 BEPALING VAN AMMONIUM NA STOOMDESTILLATIE

3.1 Principe

Ammonium in een oplossing die alkali-labele stikstof componenten bevat wordt vrijgesteld door toevoeging van MgO. De daarbij gevormde ammoniak wordt door stoomdestillatie vrijgesteld en opgevangen in een overmaat zuur. De hoeveelheid ammonium wordt door terugtitratie bepaald.

Er wordt tijdens de destillatie geen gebruik gemaakt van natriumhydroxide en de destillatieduur wordt zo kort mogelijk gehouden teneinde te vermijden dat alkali-labele organische stikstofverbindingen mee bepaald worden.

3.2 Reagentia

- 3.2.1 Magnesiumoxide :
zuivere MgO gedurende 2 uur gloeien bij 600 à 700°C. Daarna bewaren in een exsiccator samen met KOH of in een goed gesloten potje.
- 3.2.2 Zoutzuur, 12 mol/l HCl
- 3.2.3 Zoutzuur, 0.03 mol/l :
leng 5 ml zoutzuur (3.2.2) aan tot 2 l met water. Deze oplossing moet gesteld worden.
- 3.2.4 Methylroodoplossing, 2 mmol/l :
los 0.5 g methylrood op in 1 l ethanoloplossing; 60% (v/v) ethanol in water
- 3.2.5 Methyleenblauwoplossing, 4 mmol/l :
los 1.5 g methyleenblauw op in ±800 ml water, leng aan tot 1 l en meng.
- 3.2.6 Boorzuurindicatoroplossing, 0.3 mol/l :
los 20 g boorzuur op in warm water. Koel af en voeg 10 ml methylroodoplossing (3.2.4) en 2 ml methyleenblauwoplossing (3.2.5) toe. Breng de pH op 4.6 (omslagpunt van methylrood). Leng aan tot 1 l en meng.

3.3 Apparatuur en materiaal

3.3.1 Stoomdestillatietoestel

3.3.2 Destillatiebuizen

3.4 Werkwijze

- Weeg een bepaalde hoeveelheid monster (± 5 g), gehomogeniseerd volgens BAM/deel 3/02, af tot op 1 mg nauwkeurig. Een representatief deelmonster kan worden genomen aan de hand van een pipet met brede uitstroomopening of met een maatschepje. Weeg bij voorkeur rechtstreeks in de destillatiebuis af. Voeg water toe zodat de buis van het destillatietoestel in de oplossing hangt.
- Breng 50 ml boorzuuroplossing (3.2.6) in een erlenmeyer en plaats die zo onder de koeler dat het uiteinde zich onder de vloeistofspiegel bevindt.
- Voeg 0.5 g MgO (3.2.1) toe aan de destillatiebuis.
- Begin onmiddellijk de stoomdestillatie.
- Destilleer tot minstens 100 ml overgekomen is, stop dan de destillatie.
- Titreer het destillaat met de gestelde HCl oplossing (3.2.3) tot kleuromslag (V_1). Er kan ook worden getitreerd met behulp van een pH meter. Titreer in dat geval tot pH 4.6.
- Voer dezelfde procedure uit voor een blanco-oplossing en titreer (V_0)

3.5 Berekeningen

Hierbij moet rekening gehouden worden met de voorbehandeling van de monsters.

Het resultaat wordt uitgedrukt als stikstofconcentratie C_N (kg N/1000 kg) in vers materiaal met de volgende formule.

$$C_N = 14.007 \times \frac{(V_1 - V_0) \times C_{HCl}}{m} \times F$$

waarin :

- C_N : concentratie ammonium in het oorspronkelijke monster in kg N/1000 kg VM
 V_1 : volume bij titratie van het monster in ml
 V_0 : volume bij titratie van de blanco in ml
 m : massa van het monster dat in bewerking werd genomen in g
 C_{HCl} : concentratie van het zoutzuur in mol/l
 F : verdunningsfactor zoals bepaald volgens BAM/deel 3/02

4 SPECTROFOTOMETRISCHE BEPALING VAN AMMONIUM NA UITLOGING

De spectrofotometrische bepaling van ammonium in een extract kan manueel of met een doorstroomanalyzesysteem gebeuren volgens :

- a. NBN EN ISO 11732 :2005 Waterkwaliteit - Bepaling van ammoniakale stikstof door stroomanalyse (CFA en FIA) en spectrometrische detectie (ISO 11732 :2005)
- b. ISO 7150-1 :1984 Water quality - Determination of ammonium - Part 1 : Manual spectrometric method
- c. NEN6604 :2007 Water – Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie

4.1 Apparatuur en materiaal

- 4.1.1 Schudtoestel
- 4.1.2 Plooi-filter of vergelijkbaar

4.2 Werkwijze

4.2.1 Algemeen

- a. Weeg een bepaalde hoeveelheid monster (± 5 g), gehomogeniseerd volgens BAM/deel 3/02, af tot op 1 mg nauwkeurig. Een representatief deelmonster kan worden genomen aan de hand van een pipet met brede uitstroomopening of met een maatschepje.
- b. Dit deelmonster wordt verdund met water in een verhouding van 1/100 (m/v) in een maatkolf. Goed schudden (4.1.1). Het volume van de maatkolf is V_{ext} .
- c. De oplossing wordt gecentrifugeerd of gefiltreerd. Spoel de filter (4.1.2) voor met monsteroplossing en verwerp het eerste deel van het filtraat. De rest van het filtraat wordt opgevangen in een droog recipiënt.
- d. Voer de verdere analyse onmiddellijk na de filtratie uit.

4.2.2 Opmerking

Het water dat wordt gebruikt voor de verdunning van de mest kan lichtjes worden aangezuurd met HCl om ammoniakvervluchtiging te vermijden. Dit mag enkel gebeuren als dat geen invloed heeft op de bepalingmethode.

4.3 Berekeningen

Spectrofotometrische methodes gebruiken een ijklijn om de concentratie van onbekenden te bepalen. Bepaal de ammoniumconcentratie in het extract na blancocorrectie en hou daarbij rekening met eventuele verdunningen.

Het resultaat wordt uitgedrukt als stikstofconcentratie C_N (kg N/1000 kg) in vers materiaal met de volgende formule.

$$C_N = \frac{C_l \times V_{\text{ext}}}{m} \times F$$

waarin :

C_N : concentratie ammonium in het oorspronkelijk monster in kg N/1000 kg VM

C_l : concentratie ammonium in het extract na blancocorrectie in mg N/l

m : massa monster dat geëxtraheerd werd in g

V_{ext} : totaal volume extract in l

F : verdunningsfactor zoals bepaald volgens BAM/deel 3/02

BAM/DEEL 3/06 – VLOEIBARE DIERLIJKE MEST – TOTALE STIKSTOF

1 PRINCIPE

Er wordt van uitgegaan dat verse vloeibare dierlijke mest geen nitraat of nitriet bevat. De bepaling van totale stikstof bij verse vloeibare dierlijke mest beperkt zich dus tot Kjeldahl stikstof (NEN 7437 :1998, mits enkele wijzigingen). De bepaling van Kjeldahl stikstof omvat een destructie met H_2SO_4 en een katalysatormengsel waarbij organische stikstofverbindingen worden omgezet naar ammonium. Na destructie wordt ammoniak vrijgesteld door toevoegen van natriumhydroxide en overgedestilleerd in een geschikte absorptievloeistof. In dat destillaat wordt vervolgens ammoniak bepaald met een titratie of spectrofotometrisch.

Wanneer de analyse uitgevoerd wordt op andere mestproducten dan verse mest, dan mag er niet vanuit gegaan worden dat die producten geen nitraat of nitriet bevatten. In dat geval moet voor de bepaling van totale stikstof de niet-gemodificeerde methode voor de bepaling van totale N toegepast worden volgens NEN 7437 :1998 Dierlijke mest en mestproducten - Bepaling van het gehalte aan totaal stikstof. De totale N mag eveneens bepaald worden uit de som van de Kjeldahl stikstof en de afzonderlijk bepaalde nitraat- en nitrietstikstof.

Deze BAM procedure beschrijft de Kjeldahl-N bepaling in verse vloeibare dierlijke mest.

2 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering van de vloeibare dierlijke mest wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 3/01.

De monstervoorbehandeling wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 3/02.

3 REAGENTIA

3.1 H_2SO_4 , 18M

3.2 Zoutzuur, 0.2 mol/l :

leng 16 tot 17 ml geconcentreerd zoutzuur aan tot 1l. Deze oplossing moet gesteld worden.

3.3 Methylroodoplossing, 2 mmol/l :

los 0.5 g methylrood op in 1 l ethanoloplossing; 60% (v/v) ethanol in water

3.4 Methyleenblauwoplossing, 4 mmol/l :

los 1.5 g methyleenblauw op in ± 800 ml water, leng aan tot 1 l en meng.

3.5 Boorzuurindicatoroplossing, 0.3 mol/l :

los 20 g boorzuur op in warm water. Koel af en voeg 10 ml methylroodoplossing (3.3) en 2 ml methyleenblauwoplossing (3.4) toe. Breng de pH op 4.6 (omslagpunt van methylrood). Leng aan tot 1 l en meng.

3.6 Natriumhydroxideoplossing, 9 mol/l :

los 360 g natriumhydroxide op in ± 800 ml water. Afkoelen, aanlengen tot 1 l en mengen.

- 3.7 Katalysator :
100 g kaliumsulfaat (K_2SO_4) en 10 g kopersulfaatpentahydraat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) : maal en meng (NEN 7437).
- 3.8 Antischuimmiddel

4 APPARATUUR EN MATERIAAL

- 4.1 Destructiebuizen van 250 ml
- 4.2 Destructieblok, voor een temperatuur van 370 – 380°C
- 4.3 Destillatie-opstelling, geschikt voor de aansluiting van 250 ml destructiebuizen
- 4.4 Kooksteentjes

5 WERKWIJZE

5.1 Monstername

Vertrek van een monster dat is voorbehandeld volgens BAM/deel 3/02. Een bepaalde hoeveelheid monster wordt afgewogen tot op 1 mg nauwkeurig (massa m) in een destructiebuis. Vloeibare mest wordt na homogenisatie bemonsterd met een pipet of een maatschepje. De hoeveelheid die in bewerking wordt genomen bevat maximaal 1 g droge stof en een geschat stikstofgehalte van ten minste 2 mg en ten hoogste 100 mg.

5.2 Destructie

- Voeg 20 ml H_2SO_4 (3.1) toe en meng.
- Voeg 5 g katalysatormengsel (3.7) toe.
- Voeg antischuimmiddel (3.8) toe. Verwarm langzaam tot de vloeistof zachtjes kookt. Let op voor overmatig schuimen. Bij vloeibare mest wordt eerst water verdampt. Daarna stijgt de temperatuur verder. Verwarm zo dat het zwavelzuur condenseert ongeveer halverwege de destructiebuis. Kook nadat de vloeistof helder wordt nog 15 minuten.
- De optimale destructietemperatuur is 370 à 380 °C. Bij lagere temperatuur is de destructie onvolledig, bij hogere treden verliezen op.
- Laat de vloeistof na destructie afkoelen en verdun met 50 ml water.

5.3 Bepaling

- Breng in een kolf 50 ml boorzuurindicatoroplossing (3.5). Plaats die kolf onder de koeler zodat de uitstroomopening zich onder de vloeistofspiegel bevindt.
- Voeg aan het destruaat in de destructiebuis 50 ml natriumhydroxide-oplossing (3.6) toe en sluit de buis onmiddellijk aan op het destillatietoestel.
- Destilleer met een snelheid van ± 10 ml/minuut tot alle ammoniak overgedestilleerd is.
- Titreer de inhoud van de kolf met gesteld zoutzuur (3.2) tot de kleur omslaat van groen naar paars-violet. Noteer het gebruikte volume (V_1).

- e. Voer de hele procedure uit voor een blanco. Noteer het volume voor dat blancodestruaat (V_0).

Alternatief kan de bepaling van ammonium in het destillaat spectrofotometrisch worden uitgevoerd, mits een geschikte absorptievloeistof wordt gebruikt, volgens :

- NBN EN ISO 11732 :2005 Waterkwaliteit - Bepaling van ammoniakale stikstof door stroomanalyse (CFA en FIA) en spectrometrische detectie (ISO 11732 :2005)
- ISO 7150-1 :1984 Water quality - Determination of ammonium - Part 1 : Manual spectrometric method
- NEN6604 :2007 Water – Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie

6 OPMERKINGEN

Er bestaan verscheidene varianten op deze methode. Ze zijn bruikbaar voor zover ze niets fundamenteel wijzigen aan de gegeven procedure.

Andere katalysatoren kunnen ook gebruikt worden. Doorgaans zijn die katalysatoren commercieel verkrijgbaar als tabletten. Enkele varianten zijn :

- 200 g kaliumsulfaat (K_2SO_4), 6 g kopersulfaatpentahydraat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) en 6 g titaandioxide (TiO_2) : maal en meng (ISO 11261⁷).
- 20 g seleenpoeder, 15 g kopersulfaat ($CuSO_4$) en 950 g Na_2SO_4 , goed mengen (WAC/III/D/030).

7 BEREKENINGEN

Het resultaat wordt uitgedrukt als stikstofconcentratie C_N (kg N/1000 kg) in vers materiaal met de volgende formule.

$$C_N = M_N \times \frac{(V_1 - V_0) \times C_{HCl}}{m} \times F$$

waarin :

C_N	concentratie stikstof in het oorspronkelijke monster in kg N/1000 kg VM
M_N	de molaire massa van stikstof (14.007 g/mol)
V_1	gebruikte hoeveelheid zoutzuur bij titratie van het monster in ml
V_0	gebruikte hoeveelheid zoutzuur bij titratie van de blanco in ml
m	massa van het analysemonster in g
C_{HCl}	de concentratie van het zoutzuur in mol/l
F	de verdunningsfactor zoals bepaald volgens BAM/deel 3/02

8 REFERENTIE

NEN 7437 :1998 Dierlijke mest en mestproducten - Bepaling van het gehalte aan totaal stikstof (mits enkele wijzigingen)

⁷ ISO 11261 :1995 Soil quality - Determination of total nitrogen - Modified Kjeldahl method

BAM/DEEL 3/20 – VLOEIBARE DIERLIJKE MEST – RAPPORTERING

De volgende gegevens moeten vermeld worden op het analyserapport :

1 ALGEMEEN

- a. Briefpapier van het laboratorium met minimaal vermelding van naam, adres, telefoon, fax, e-mail
- b. Uniek rapportnummer
- c. Uniek nummer monster en nummer monster toegekend door de mestbank (indien van toepassing)
- d. Datum van de analyse
- e. Datum verzending rapport
- f. Naam en handtekening van de verantwoordelijke van het laboratorium (mag eventueel digitaal)
- g. Naam en adres van degene aan wie het rapport bezorgd wordt

2 BETREFFENDE DE MONSTERNAME

- a. Naam van de monsternemer. Indien het laboratorium specifieke identificatienummers hanteren voor hun monsternemers, worden die eveneens op het verslag vermeld.
- b. Indien het monster niet genomen werd door een monsternemer verbonden aan het laboratorium, moet dat uitdrukkelijk vermeld worden op het analyserapport.
- c. Datum van de monstername
- d. Opdrachtgever aanwezig bij de monstername (J/N)
- e. Omschrijving van de plaats van monstername (bijvoorbeeld mestkelder, bij lossen/laden van het transport, mestsilo, ...)

3 ALGEMENE INLICHTINGEN BETREFFENDE DE AARD VAN HET MONSTER

Het type mest of mestproduct moet minstens vermeld worden (bijvoorbeeld zeugenmengmest, vleesvarkensmengmest, kalvergierv, dunne fractie varkensmest, effluent na biologie...).

4 EENHEDEN

Droge stof :	kg/1000 kg VM
Ammonium :	kg N/1000 kg VM
Totale stikstof :	kg N/1000 kg VM
Totale fosfor :	kg P ₂ O ₅ /1000 kg VM

BAM/DEEL 4/00 – VASTE DIERLIJKE MEST – TOEPASSINGSGEBIED

De methoden hebben betrekking op de bemonstering en analyse van vaste dierlijke mest zoals voorzien in het decreet van 22 december 2006 houdende de bescherming van water tegen verontreiniging door nitraten uit agrarische bronnen (hierna het Mestdecreet te noemen) en zijn uitvoeringsbesluiten :

Onder dierlijke mest wordt zowel ruwe, onbehandelde dierlijke mest verstaan als dierlijke mest of fracties van dierlijke mest die een behandeling ondergaan hebben.

Het uitvoerend laboratorium moet erop toezien dat de bemonstering en analyse steeds volgens de hieronder beschreven methodologie gebeurt en draagt daarvoor ook de verantwoordelijkheid.

BAM/DEEL 4/01 – VASTE DIERLIJKE MEST – BEMONSTERING

1 PRINCIPE

De bemonstering moet op een zodanige manier uitgevoerd worden dat een representatief monster verkregen wordt.

De bemonstering van vaste dierlijke mest kan gebeuren door het bemonsteren van de opslag (veelal mesthopen maar ook containers, loodsen, ...), bemonstering bij de afvoer van de mest uit de stal naar de opslag via mestbanden of bemonstering rechtstreeks in de stal bij bepaalde types pluimveestallen.

2 HYGIËNEMAATREGELEN

Bij bemonstering op een landbouwbedrijf of bij een verwerkingsinstallatie moeten de sanitaire voorschriften in opdracht van de landbouwer resp. uitbater worden nageleefd (bijvoorbeeld laarzen door ontsmettend bad, gebruik van overalls ter plaatse, douchen,...)

Indien met eigen beschermkledij gewerkt wordt, moet een zuivere overall gebruikt worden. Bij gebruik van eigen laarzen moeten proper gespoten worden met zuiver water en moet eventueel een ontsmettend middel worden gebruikt.

De bemonsteringsapparatuur moet bij het betreden van het landbouwbedrijf steeds volledig zuiver zijn.

3 TERMEN EN DEFINITIES MONSTERNEMING

- a. *Greep* : een hoeveelheid materiaal die bij de monsterneming in één handeling uit de partij is genomen, maar voor analyse met andere grepen wordt samengevoegd tot een mengmonster.
- b. *Bemonsteringspunt* : plaats in de partij waar een greep genomen wordt.
- c. *Monster* : een portie materiaal dat geselecteerd werd uit een grotere hoeveelheid materiaal.
- d. *Mengmonster* : de hoeveelheid materiaal die ontstaat doordat meerdere grepen worden samengevoegd. De identiteit van de oorspronkelijke grepen gaat door die menging verloren.
- e. *Laboratoriummonster* : een monster bedoeld voor laboratoriuminspectie of -test
Opmerking : het laboratoriummonster is het finale monster vanuit het standpunt van de monsterneming maar is het initiële monster vanuit het standpunt van het laboratorium.
- f. *Mengen* : het combineren van componenten, deeltjes of lagen in een meer homogene toestand.
- g. *Partij* : een afgebakende hoeveelheid materiaal

4 BENODIGDHEDEN

De uitrusting en recipiënten moeten rein en zuiver zijn.

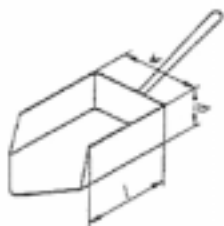
- a. schop, bij voorkeur met rechtopstaande randen (bijvoorbeeld met opening van minimaal 12 cm) : zie Figuur 8.
- b. gutsboor : zie Figuur 9 (doorgaans wordt een gutsboor met dia 30 mm en nuttige lengte van 60 cm gebruikt). Eventueel met bijhorende spatel om de inhoud uit de boor te schrapen
- c. handschep, bij voorkeur met rechtopstaande randen : zie Figuur 10
- d. staalstang (bestaande uit holle buitenste staalstang en een binnenstang) : zie Figuur 11
- e. veeartsenhandschoenen
- f. (stevige) handschoenen (of draag 2 paar wegwerphandschoenen over elkaar)
- g. verzamelrecipiënt waarin de grepen kunnen worden verzameld (kan evt. ook voor homogenisatie gebruikt worden) : droge, zuivere schaal, bak, emmer of kruiwagen
- h. homogenisatieschaal of -zeil
- i. handschepje of truweel voor homogeniseren, verdelen en vullen van monsterrecipiënten of afschrapen van de mestband
- j. monsternamezak (plastic) of monsterrecipiënt met deksel (met inhoud 1,3 of 5 liter, afhankelijk van de grootte van de mestdeeltjes van de te bemonsteren mest)
- k. dikke stift en/of (voorgedrukte) etiketten voor het identificeren van de monsternamezakken – of recipiënten
- l. inlichtingsformulieren voor opgave van de gegevens van het monster
- m. ontsmettingsmiddel
- n. indien nodig : een wiellader/shovel met laadschop en chauffeur



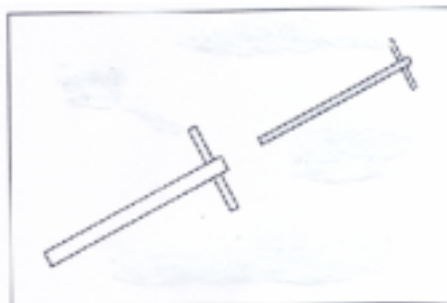
Figuur 8 bemonsteringsschop met rechtopstaande rand



Figuur 9 gutsboor



Figuur 10 handschep



Figuur 11 staalstang

5 BEMONSTERING VAN EEN MESTOPSLAG

5.1 Partij en partijafbakening

Bemonstering van vaste dierlijke mest in opslag zal veelal geschieden vanuit voorraadhopen (mesthopen). Voorraadhopen worden aangeduid als “statische partijen”. Ook opgeslagen materiaal in bunkers, containers, loodsen, laadeenheden enzovoort valt onder die noemer.

In het kader van analyses op verwerkt mest zal de bemonstering veelal geschieden vanuit voorraadhopen met opgeslagen mestproducten. Voorraadhopen worden aangeduid als “statische partijen”. Ook opgeslagen materiaal in bunkers, containers, loodsen, laadeenheden enzovoort valt onder die noemer.

De partij wordt éénduidig beschreven door o.a. de dimensies van de partij en vaststelling van de aard van het materiaal. De dimensies worden vastgelegd aan de hand van grondoppervlak en hoogte. De partij kan verder nog beschreven worden aan de hand van typische kenmerken (bijvoorbeeld stalmest afkomstig uit verschillende stallen, ...).

Indien er op één locatie meerdere partijen worden aangetroffen, moet tussen de verschillende partijen een onderscheid worden gemaakt : de partijen worden afgebakend. Als vuistregel geldt dat elke afgebakende partij afzonderlijk bemonsterd wordt. Elke opslageenheid wordt dus als een afzonderlijke partij beschouwd. Dat betekent dat elke hoop, container, vrachtwagen, silo, laadeenheid, ... in principe afzonderlijk bemonsterd wordt, tenzij die een gelijkaardige lading bevatten. Indien binnen één opslageenheid nog onderscheid kan worden gemaakt tussen verschillende soorten mest, visueel en/of op basis van ontstaan, herkomst of soort mest, worden de partijen afzonderlijk bemonsterd.

Rekening houdend met de praktische haalbaarheid van de monsterneming, geldt voor de partijgrootte een maximum van 1000 m³. Partijen groter dan 1000 m³ worden in twee of meerdere (min of meer gelijke) deelpartijen opgesplitst. Elke deelpartij (maximaal 1000 m³) wordt vervolgens afzonderlijk bemonsterd. De afzonderlijke monsters verzameld voor elk van de deelpartijen mogen vervolgens samengevoegd worden tot één mengmonster waaruit het laboratoriummonster bereid wordt.

5.2 Monster

Het doel van de monsterneming, zoals beschreven in deze procedure, is een monster te nemen met een gemiddelde samenstelling dat representatief is voor de hele hoop mest. Daarom wordt per monsternamen één mengmonster genomen dat samengesteld is uit meerdere grepen (zie ook punt 5.3) die op verschillende plaatsen in de hoop mest (bemonsteringspunten) genomen worden.

De monsterhoeveelheid van een laboratoriummonster is afhankelijk van de grootte van de mestdeeltjes. Dit om de representativiteit van het monster ten opzichte van de oorspronkelijke partij te garanderen.

- a. < 10 mm : 1 liter
- b. 10-40 mm : 3 liter
- c. >40 mm : 5 liter

5.3 Aantal, plaats en hoeveelheden grepen

5.3.1 Aantal grepen

Per monsternamen worden standaard minimaal 18 grepen genomen. Een greep is de hoeveelheid mest die op een bepaalde plaats (bemonsteringspunt) in één handeling genomen kan worden (bijvoorbeeld één schep, boorsteek, boring, handgreep).

Hoe groter de partij echter, des te meer grepen er worden genomen om een representatief monster te verkrijgen. Voor partijen groter dan 500 m³ wordt het aantal opgedreven tot minimaal 30 grepen. Voor zeer kleine partijen (<20 m³) volstaan minimaal 10 grepen.

- a. Standaard : minimaal 18 grepen
- b. Partijen >500 m³ : minimaal 30 grepen
- c. Partijen <20 m³ : minimaal 10 grepen

De voorgestelde hoeveelheden en aantallen gelden steeds als minimumvoorwaarde. Meer grepen komen de representativiteit van het monster ten goede.

5.3.2 Greepgrootte

Om elk individueel materiaaldeel in de partij dezelfde kans te geven om bemonsterd te worden, wordt de grootte van een greep aangepast aan de grootte van de mestdeeltjes van het te bemonsteren mest. Des te grover het materiaal, des te groter de greep genomen wordt.

Dit heeft tevens als gevolg dat de gebruikte bemonsteringsapparatuur aangepast moet zijn aan de grootte van de mestdeeltjes van de te bemonsteren mest. Bij afspraak wordt de opening van de boor of schep, zo mogelijk, ca. 2 à 3 keer groter genomen dan het grootste mestdeeltje.

Indien de grootte van de mestdeeltjes < 10 mm is een gutsboor of staaltang het aangewezen hulpmiddel. Mest waarvan de grootte van de mestdeeltjes groter is, wordt bemonsterd met een schep/schop of met de hand. Zorg ervoor dat de opening van de schep groot genoeg is m.b.t. de grootte van de mestdeeltjes van de te bemonsteren mest. De schep heeft bij voorkeur rechtopstaande randen zodat het materiaal tijdens het scheppen niet kan terug vallen. Omgekeerd wordt het overtollig materiaal boven de randen van de guts of schep verwijderd (bijvoorbeeld met een spatel) aangezien dat niet tot de greep behoort.

Qua hoeveelheden worden per greep de volgende richtlijnen vooropgesteld :

- a. Voor grootte van de mestdeeltjes <10 mm : ca. 100 ml
- b. Voor grootte van de mestdeeltjes >10 mm : ca. 1,5 liter

5.3.3 Plaats grepen (bemonsteringspunten)

De verschillende bemonsteringspunten wordt gelijkmatig ruimtelijk verspreid over de omtrek van de partij. Bij afspraak worden de grepen genomen op menshoogte, tussen 0 en 150 cm hoogte t.o.v. de grond. De ruimtelijke spreiding van de grepen moet zowel in horizontale, als in verticale zin, homogeen zijn

Het bemonsteren van afgesloten of half afgesloten opslagseenheden zoals vrachtwagens, containers, bunkers en opslagloodsen, zorgt voor een extra moeilijkheid inzake toegankelijkheid/bereikbaarheid en homogene spreiding van de grepen. Voorraadhoppen zijn (meestal) toegankelijk langs de volledige omtrek; vrachtwagens, containers zijn slechts langs één zijde toegankelijk (dikwijls de bovenkant). De grepen kunnen bijgevolg enkel langs de toegankelijke zijde genomen worden, waarbij de representativiteit van het monster natuurlijk beïnvloed wordt. Waar de voorraadhoop horizontaal bemonsterd wordt, zal een container of vrachtwagen verticaal bemonsterd moeten worden, wat de moeilijkheidsgraad van de monsterneming nog verhoogt. In dergelijke gevallen zal eventueel overgegaan moeten worden naar andere, meer gespecialiseerde bemonsteringsapparatuur (bijvoorbeeld grondboor voor niet-cohesief materiaal). Zorg ervoor dat de monsterneming steeds volledig beschreven en gedocumenteerd wordt, zeker indien de monsterneming beperking qua toegankelijkheid met zich meebrengt (bijvoorbeeld wanneer slechts langs 2 zijden van de hoop bemonsterd kon worden).

5.4 Uitvoering monsterneming

5.4.1 Algemeen

Voor de bemonstering van vaste dierlijke mest wordt één mengmonster genomen, bestaande uit meerdere (minimaal >10) grepen. De monsterneming kan manueel, met behulp van een gutsboor, staalstang, schep/schop of met de hand (zie werkwijze punt 5.4.2) uitgevoerd worden, of in combinatie met transportmiddelen zoals wielladers, shovels (zie werkwijze punt 5.4.3). De gecombineerde methode biedt het voordeel dat met een wiellader tot in de kern van de hoop bemonsterd kan worden, waarbij de manuele methode de bemonstering zich beperkt tot de buitenste laag van de partij. Met name voor grotere partijen (>500 m³) biedt de gecombineerde methode (met wiellader) de voorkeur omdat een hogere mate van representativiteit van het monster t.o.v. de partij verkregen wordt. De genomen grepen worden ter plaatse gemengd voor de bereiding van het laboratoriummonster (zie punt 7).

5.4.2 Manuele werkwijze bemonstering met gutsboor, staalstang, schep of met de hand

De manuele monsternemingsmethode is toepasbaar voor bemonstering van partijen tot 1000 m³. Voor partijen >500 m³ wordt evenwel de voorkeur gegeven aan een monsterneming m.b.v. een wiellader (punt 5.4.3).

- a. Bereken het volume van de te bemonsteren partij door een schatting te maken van het grondoppervlak en de gemiddelde hoogte. Aangepast aan

de omvang van partij worden minimaal 10 (partij <20 m³), 18 of 30 (partij > 500m³) grepen genomen.

- b. Verwijder met een schop of riek de buitenste laag (ongeveer 20 cm) bij elk bemonsteringspunt.
- c. Neem een greep met een gutsboor of staaltang (grootte van de mestdeeltjes < 10 mm) of schep/schop met aangepaste opening (grootte van de mestdeeltjes >10mm) of met de hand. Duw de boor, staaltang of schep/schop zo ver mogelijk schuin omhoog in het materiaal. Bij gebruik van een staaltang wordt de holle buitenste staaltang al draaiend in de mesthoop geduwd. Zorg ervoor dat de boor, staaltang of schep/schop volledig gevuld is, en dat alle grepen ongeveer dezelfde grootte hebben.
- d. Tracht op verschillende dieptes een greep te nemen : neem de helft van de grepen aan het oppervlak (bijvoorbeeld oneven aantal grepen), en de andere helft (bijvoorbeeld even aantal) op minstens 30 cm dieper in de hoop. Schep voor die laatste met een schop op het gekozen bemonsteringspunt de bovenlaag van de hoop weg (minstens 30 cm) zodat het dieper gelegen materiaal bereikbaar is. Logischerwijze is de indringingsdiepte van een gutsboor of staaltang (afhankelijk van het gebruikte type en lengte) groter dan die bij gebruik van een schop/schep.
- e. Haal de gevulde boor, staaltang of schep/schop uit de hoop. Verwijder het overtollige materiaal dat boven op de guts of schep/schop ligt (het behoort niet tot de greep). Breng het materiaal uit de boor, staaltang of schep/schop in de verzamelbak, -schaal, emmer of kruiwagen. Bij gebruik van een gutsboor : neem een spatel om de inhoud van boven naar onder uit de boor te schrappen (randen gutsboor zijn scherp!). Bij gebruik van een staaltang : duw met de binnenste staaltang het materiaal uit de holle buitenste stang.
- f. Herhaal die handeling op de verschillende bemonsteringspunten, zodat de hoop mest uniform bemonsterd wordt.

De verschillende bemonsteringspunten worden gelijkmatig ruimtelijk verspreid over de omtrek van de partij. Bij afspraak worden de grepen genomen op menshoogte, tussen 0 en 150 cm hoogte t.o.v. de grond. De ruimtelijke spreiding van de grepen moet zowel in horizontale, als in verticale zin, homogeen zijn. Neem geen onnodige risico's door op of over de hoop te lopen voor onbereikbare of slecht bereikbare bemonsteringspunten.

- g. Verzamel de grepen in een emmer, schaal, bak of kruiwagen.

5.4.3 Werkwijze bemonstering met behulp van wiellader/shovel/bulldozer

Deze gecombineerde monsternemingsmethode is toepasbaar voor partijen tot 1000 m³. Voor partijen > 500 m³ is dat de meest aangewezen methode.

Stap 1

- a. Neem met de wiellader op minimum 4 (of een even aantal groter dan 4) verschillende plaatsen in de partij een vracht of laadschop. Dit even aantal

(laadschop)vrachten wordt zodanig gespreid dat evenveel laadschoppen aan de buitenzijde (oppervlak), als van het midden (bulk) van de partij ontnomen worden. Om tot het midden van een grote partij te komen, worden met de wiellader eerst enkele vrachten materiaal uit de partij verwijderd om tot de bulk van het materiaal te komen. De verwijderde vrachten behoren niet tot de monsterneming; slechts de volgende laadschop uit de bulk van het materiaal wordt in rekening gebracht voor de monsterneming.

De plaatsen waar met de wiellader wordt geschept, worden, indien mogelijk, ruimtelijk gespreid over de partij (bijvoorbeeld aan weerszijde van de partij).

- b. De geselecteerde laadschopvrachten worden naast de partij op een schone, inerte ondergrond gestort, en vormen zo een subpartij.
- c. Homogeniseer die subpartij door ze enkele malen met de wiellader om te scheppen (opscheppen – uitspreiden in een laag – terug opscheppen - uitspreiden enz.).
- d. Spreid de subpartij vervolgens vlak uit in een laag van maximum 50 cm.

Stap 2

- a. Neem met een schep/schop op minimaal 18 bemonsteringspunten een greep uit die subpartij. Verdeel de bemonsteringspunten homogeen over het bovenoppervlak van de subpartij.
- b. Zorg ervoor dat de schep volledig gevuld is, en dat alle grepen ongeveer dezelfde grootte hebben. Verwijder eventueel het overtollige materiaal dat bovenop de schop/schep ligt (het behoort niet tot de greep).
- c. Herhaal die handeling op verschillende bemonsteringspunten (op minimaal 18 plaatsen), zodat de hoop mest uniform bemonsterd wordt.
- d. Verzamel de grepen in een emmer, schaal, bak of kruiwagen.

6 BEMONSTERING VAN PLUIMVEEMEST IN DE STAL

6.1 Afbakening

Drie specifieke methodes kunnen onderscheiden worden voor de bemonstering van pluimveemest in de stal, afhankelijk van het staltype :

- a. Bemonstering bij afdraaien van de mestbanden (batterijstal)
- b. Bemonstering in een stal met grondhuisvesting met roosters
- c. Bemonstering in een stal met grondhuisvesting zonder roosters

In functie van het type van stal zal een verschillende techniek gehanteerd moeten worden. Het is dan ook zeer belangrijk om eerst grondig na te gaan welke bemonsteringsmethode gevolgd moet worden.

6.2 Monster

Het doel van de monsterneming, zoals beschreven in deze procedure, is een monster te nemen met een gemiddelde samenstelling dat representatief is voor de volledige stal. Daarom wordt per monsternamen één mengmonster genomen dat samengesteld is uit meerdere grepen die op verschillende plaatsen in de stal of van de mestbanden (bemonsteringspunten) genomen worden.

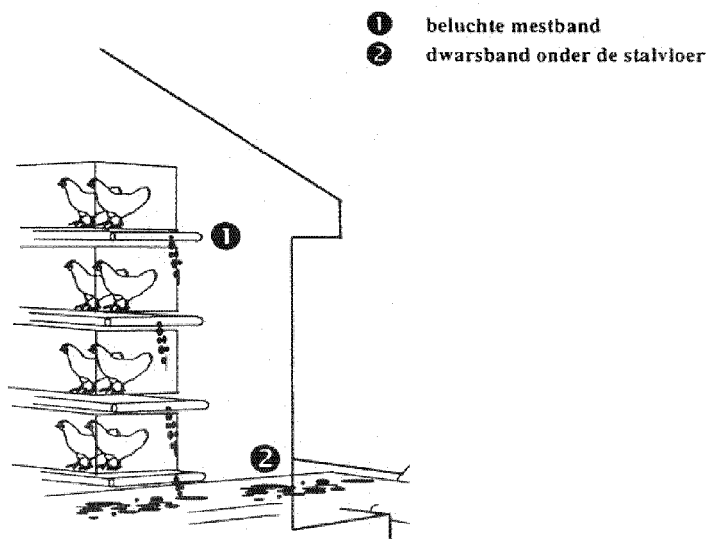
Voor uitvoering van de nodige analyses is voor het laboratoriummonster een hoeveelheid materiaal nodig van minimaal 1 liter.

6.3 Bemonstering bij afdraaien van de mestbanden (batterijstal)

6.3.1 Aantal, plaats en hoeveelheid grepen

Bij voorkeur wordt de bemonstering uitgevoerd aan de dwarsband (verzamelband van de verschillende mestbanden, etages) net voor de mest in de loods gaat, dus onmiddellijk buiten de stal (Figuur 12). Als dat onmogelijk is, moeten de grepen genomen worden van de mestbanden zelf. Let daarbij op dat er een evenredige bemonstering is van de verschillende etages.

Het aantal grepen bedraagt minimaal 18.



Figuur 12 Situering van de mestbanden in een batterijstal

6.3.2 Uitvoering monsterneming

Hou de schaal, bak, emmer of kruiwagen onder de band, schraap met een handschepje of truweel de mest over de hele bandbreedte daarin. Wacht dan één tot twee minuten en voer dezelfde handeling opnieuw uit. De totale duur van afdraaien varieert per bedrijf, maar ligt meestal rond de 30 minuten.

De genomen grepen worden ter plaatse gemengd voor de bereiding van het laboratoriummonster (zie punt 7).

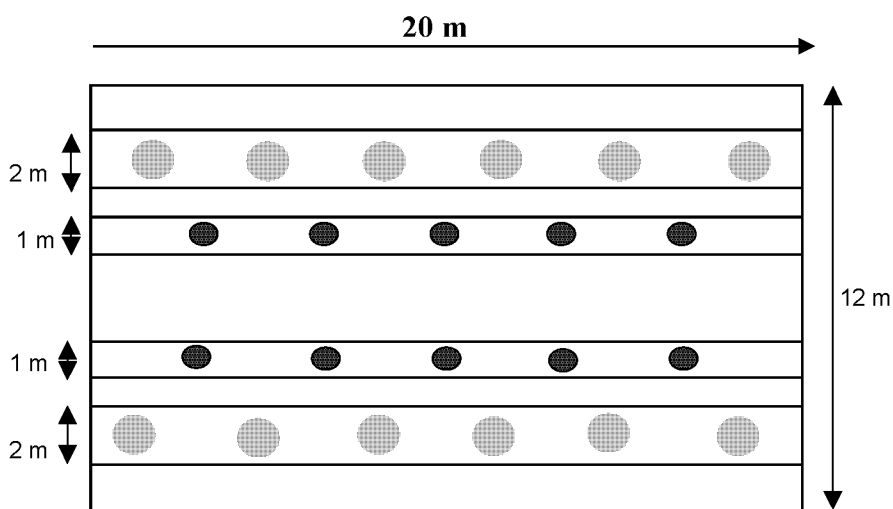
6.4 Bemonstering in een stal met grondhuisvesting zonder rooster

6.4.1 Aantal, plaats en hoeveelheid grepen

Opmerking : er moet gewerkt worden op oppervlaktebasis.

Algemeen geldt dat het monster van vaste mest representatief moet zijn. Het nemen van grepen op verschillende plaatsen in de stal is aldus noodzakelijk. Er ontstaan verschillen in mestsamenstelling binnen de stal doordat de mest al dan niet in de buurt ligt van een voer- of drinkplaats.

Hierna wordt een voorbeeld van bemonstering uitgewerkt :



(grijs : voerplaats; zwart : drinkplaats)

Stap 1

Bepaal de lengte en breedte van de stal; de pluimveehouder is daarvan meestal op de hoogte.

In dit voorbeeld : 20 op 12 m

Stap 2

Tel het aantal voer- en drinklijnen en maak een zo goed mogelijke inschatting van de oppervlakte van de mest die door elk van die lijnen beïnvloed wordt.

In dit voorbeeld :

2 voerlijnen – plaatsing : 4 van de 12 m lengte beïnvloed door de voerlijn (= 2/6)

2 waterlijnen – plaatsing : 2 van de 12 meter lengte beïnvloed door de waterlijn (= 1/6)

6 van de 12 meter lengte niet beïnvloed (= 3/6)

Stap 3

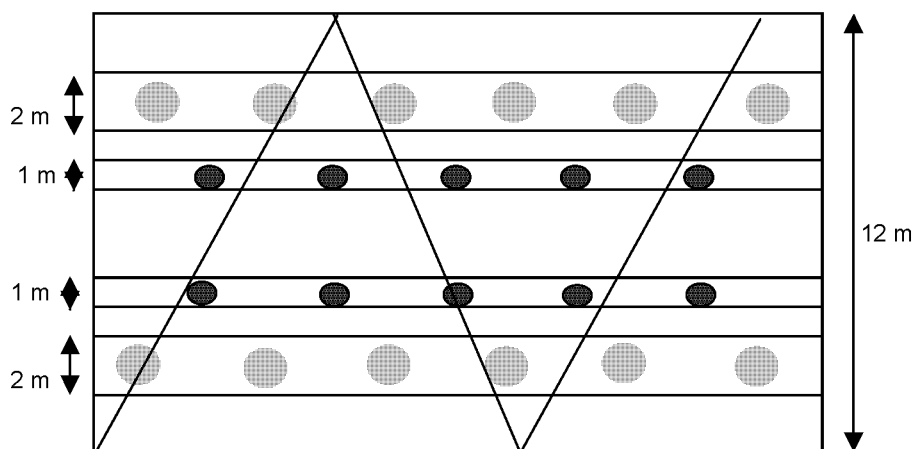
Berekening van het aantal grepen : het aantal te nemen grepen moet steeds minimaal 18 bedragen. Neem steeds een veelvoud van de noemer van de plaatsverdeling

In dit voorbeeld : er moet een veelvoud van zes genomen worden, dus 18 grepen (6 x 3).

Stap 4

Bepaal het aantal oversteken te verdelen over de stal. Het gemakkelijkste is om als aantal hier te nemen het veelvoud dat in stap 3 genomen is om tot het aantal grepen te komen.

In dit voorbeeld : in stap 3 is 3 het gehanteerde veelvoud, dus 3 oversteken.



Stap 5

Verdeling van de grepen : evenredig met de hierboven verdeelde oppervlakte verdeling. De bemonsteringspunten moeten zodanig gekozen worden dat alle delen van de stal ongeveer evenveel aan bod komen.

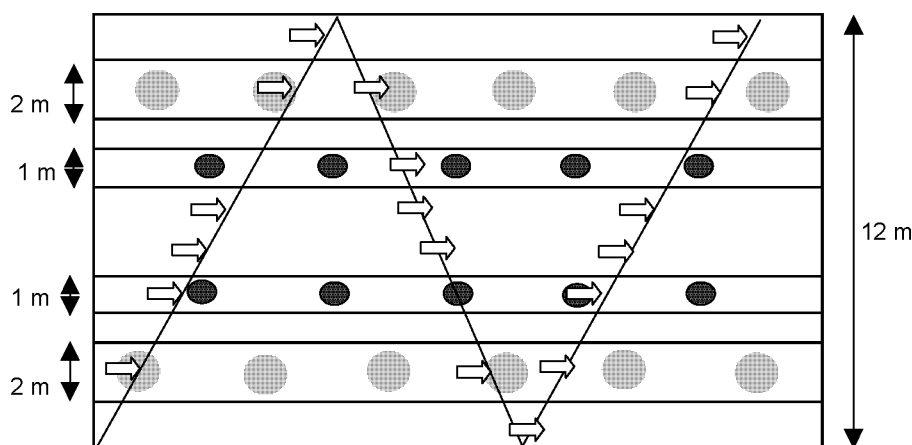
In dit voorbeeld :

Voerlijnmonsters : 2/6 ---- x 3 ----6 van de 18 grepen

Waterlijnmonsters : 1/6----x 3-----3 van de 18 grepen

Overige monsters : 3/6----x 3-----9 van de 18 grepen

Om de zaak overzichtelijk te houden, is het aan te bevelen om de zigzag drie maal uit te voeren, telkens voor een ander type greep. Doorkruis de stal en neem de voerlijn *grepen*, kom terug en neem de waterlijn *grepen* en de derde keer de overige *grepen*.



6.4.2 Uitvoering monsterneming

Baken met het handschepje of truweel een bepaalde oppervlakte af, bijvoorbeeld 15 op 15 cm. Schep de volledige laaginhoud van het afgebakende oppervlak in de kruiwagen of emmer. Het is belangrijk om voor elke greep een even grote oppervlakte af te bakenen en op te scheppen (18 rasters).

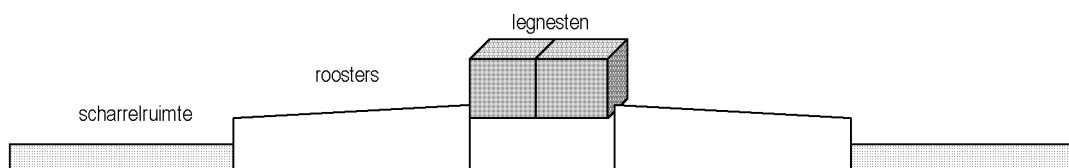
De genomen grepen worden ter plaatse gemengd voor de bereiding van het laboratoriummonster (zie punt 7).

6.5 Bemonstering in een stal met grondhuisvesting met rooster

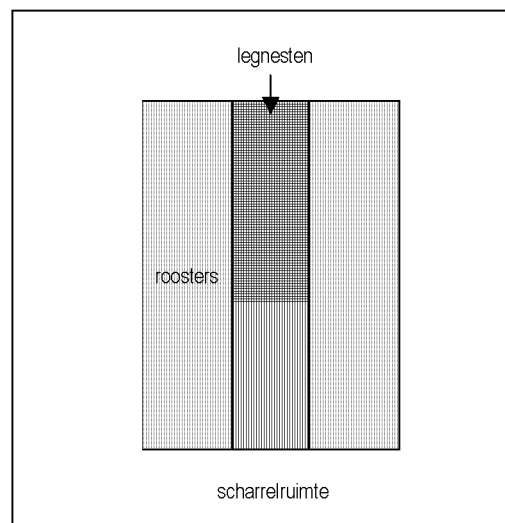
6.5.1 Aantal, plaats en hoeveelheid grepen

Opmerking : er moet gewerkt worden op volumebasis

Algemeen geldt dat het monster van vaste mest representatief moet zijn. Het nemen van grepen op verschillende plaatsen in de stal is aldus noodzakelijk. Er ontstaan verschillen in mestsamenstelling binnen de stal doordat de mest al dan niet in de buurt ligt van een voer- of drinkplaats. Voorbeeld van inrichting van een dergelijke stal wordt hieronder weergegeven (Figuur 13 : zijaanzicht, Figuur 14 : bovenaanzicht)



Figuur 13 Dwarsdoorsnede van een stal met grondhuisvesting met beun



Figuur 14 Bovenaanzicht van een stal met grondhuisvesting met beun

6.5.2 Uitvoering monsterneming

Voorzie twee afzonderlijke bakken, schalen of emmers : één om de grepen te verzamelen die genomen worden onder de roosters en één om de grepen vanuit de scharrelruimte te verzamelen.

Stap 1. Bepalen van de verhouding

De verdeling van de te verzamelen hoeveelheid materiaal onder de rooster en in de scharrelruimte gebeurt op volumebasis. Daartoe wordt nagegaan (te bevragen aan de pluimveehouder of ter plaatse in te schatten) wat de volumes aan mest zijn in de scharrelruimte enerzijds en onder de roosters anderzijds om de verhouding tussen beide te bepalen. De te verzamelen hoeveelheid materiaal onder de rooster en in de scharrelruimte moet in dezelfde verhouding zijn.

In bovenstaand voorbeeld op het einde van de cyclus, was de hoeveelheid (volume) mest aanwezig onder de roosters (40 cm hoog) gelijk aan die, aanwezig in de scharrelruimte (7 à 8 cm hoog). Dus een verhouding van 1 op 1. Dat wil zeggen dat de hoeveelheid materiaal genomen onder de roosters gelijk moet zijn aan de hoeveelheid materiaal verzameld uit de scharrelruimte.

Stap 2. Grepen uit de scharrelruimte

Baken met het handschepje of truweel een bepaalde oppervlakte af, bijvoorbeeld 15 op 15 cm. Schep de volledige laaginhoud van het afgebakende oppervlak in de eerste bak, schaal of emmer. Het is belangrijk om voor elke greep een even grote oppervlakte af te baken en op te scheppen. Neem minimaal 9 grepen.

Let op : ook hier moet de verdeling van de voederlijnen en eventuele waterlijnen in rekening gebracht worden zoals beschreven in punt 6.4.1.

Stap 3. Grepen onder de rooster

Gebruik een gutsboor of staaltang voor de bemonstering. Bemonster tot op de bodem en zorg voor een goede verdeling van de grepen over meerdere plaatsen onder de rooster. Verzamel het materiaal in de tweede bak, schaal of emmer. Neem zoveel grepen tot de hoeveelheid verzameld materiaal in de tweede bak/schaal/emmer twee ten opzichte van de eerste bak/schaal/emmer dezelfde verhouding heeft als bepaald in *Stap 1*.

In het voorbeeld : Dit zou er op neerkomen dat in beide emmers evenveel verzameld materiaal moet zitten aangezien de verhouding 1 op 1 was.

De genomen grepen worden ter plaatse gemengd voor de bereiding van het laboratoriummonster (zie punt 7).

7 HOMOGENISEREN EN BEREIDEN VAN HET LABORATORIUMMONSTER

De genomen grepen worden ter plaatse gemengd tot een homogeen mengmonster. Het mengmonster wordt indien mogelijk in zijn geheel in het monsterrecipiënt gebracht. Indien de monsterhoeveelheid van het mengmonster te groot is om het in zijn geheel over te brengen in het monsterrecipiënt (wat meestal het geval zal zijn), wordt de hoeveelheid mengmonster vooraf gereduceerd (door kwarteren) tot de benodigde hoeveelheid materiaal voor bereiding van het laboratoriummonster.

a. Homogeniseren :

Hierbij worden alle grepen uit de partij uitgespreid op een inerte ondergrond. Gebruik daarvoor een plastic schaal, zeil (een emmer is minder geschikt voor het verdere verdelen/kwarteren). Gebruik voor het mengen een schep of grotere schop.

Een goede homogenisatietechniek bestaat erin het materiaal op te hopen door de buitenzijden van het materiaal telkens naar het midden toe te scheppen. De gevormde hoop wordt daarna afgeplat en terug uitgespreid. Deze werkwijze wordt enkele malen herhaald.

Een andere werkwijze bestaat erin het materiaal enkele keren van één hoop naar een andere hoop te scheppen. Gebruik daarvoor eventueel 2 schalen of zeilen (of een combinatie van beide) als de hoeveelheid materiaal te groot is om dat binnen één oppervlak te realiseren.

b. Reduceren m.b.v. kwarteertechniek :

Spread het gehomogeniseerde mestmonster cirkelvormig met beperkte laagdikte uit in de verzamelbak, -schaal. Verdeel de cirkel via twee diagonalen in 4 kwarten.

Verwijder twee tegenoverliggende kwarten (ze behoren niet tot het laboratoriummonster). Voeg de overblijvende kwarten samen en homogeniseer opnieuw. Herhaal zonodig de handeling tot een monster van de juiste grootte (zie punt 5.2) wordt verkregen.

Het homogeniseren, reduceren en vullen van de monsterrecipiënten mag desgewenst ook met de handen worden uitgevoerd. Draag in dat geval steeds 2 paar handschoenen over elkaar.

De richtlijnen i.v.m. monstergrootte zoals gegeven in punt 5.2 en punt 6.2 gelden tevens voor de verpakking van het materiaal. Het laboratoriummonster wordt verpakt in een stevige plastic monsterzak of goed afsluitbare monsterrecipiënten (glazen breedhalsfles of emmer met deksel).

Indien de omstandigheden en/of voorzieningen niet toelaten het samenstellen en homogeniseren op een verantwoorde wijze uit te voeren, worden de grepen afzonderlijk verpakt en met de nodige richtlijnen voor het samenstellen van het mengmonster aan het laboratorium bezorgd.

8 IDENTIFICATIE VAN DE MONSTERS

De nummering van de monsters moet eenduidig zijn zodat achteraf geen misverstanden kunnen ontstaan m.b.t. de herkomst van de monsters.

De volgende informatie moet minimaal op de recipiënten of op een begeleidend formulier aanwezig zijn :

- opdrachtgever
- type mest (bijvoorbeeld varkensstalmest, slachtkuikemest, ...)
- plaats van monsterneming (mesthoop, loods, container, batterijstal, stal met grondhuisvesting met/zonder beun ...)
- monsternemer
- plaats en datum van monsternamen
- uit te voeren analyses
- opmerking indien niet conform compendium wordt bemonsterd

Het monsterbeheersysteem van het laboratorium moet toelaten om achteraf iedere informatie met betrekking tot een individueel monster éénduidig te traceren

9 MONSTERCONSERVERING EN TRANSPORT

Het monster wordt onmiddellijk na monstername gekoeld bewaard in afwachting van en tijdens transport naar het laboratorium.

In geval van ammoniumstikstof bepaling moet het monster binnen de 24 uur na monstername afgeleverd worden aan het laboratorium,
In geval van totale stikstof en totale fosfor bepaling moet het monster binnen de 7 dagen na monstername afgeleverd worden aan het laboratorium.

10 REFERENTIES

- a. Uit werkvoorschriften :het nemen van pluimveemeststalen mei 2004.Opgesteld in het kader van het project'Evaluatie van de mestuitscheidingscijfers en de mestsamenstellingscijfers voor pluimvee'.Samenwerking tussen de Bodemkundige Dienst van België en het Proefbedrijf voor de Veehouderij te Geel , in opdracht van de Mestbank
- b. VLM werkdocument, Problematieken/ knelpunten, suggesties bij de staalname van de verschillende mestsoorten. Jaarlijks overleg laboratoria : Bespreking staalnamemethode volgens compendium. (7227/06/2003)
- c. VLM werkdocument, Evalueren van de mestuitscheidings- en de mestsamensstellingscijfers voor pluimvee, bijlage 1 : Monsternameprotocollen voor het project "Praktijkcijfers Mest en Mineralen Pluimveehouderij", Projectvoorstel Mestbank juni 2003
- d. Coffey R.D., Parker G. R., Laurent K.M. (2003). Sampling animal manure. University of Kentucky, college of agriculture, ID 148.
- e. Hochmuth G.J., Jones J.T. (2003). Collecting a Poultry Litter Sample for Analysis. University of Florida, IFAS Extension.
- f. Goan C., Walker F. (2004). Poultry litter Sampling and testing. University of Tennessee, Agricultural Extension Service, SP563.

BAM/DEEL 4/02 – VASTE DIERLIJKE MEST – MONSTERVOORBEHANDELING DOOR MENGEN, DROGEN EN MALEN – STAPELBARE MEST

1 PRINCIPE

Deze methode beschrijft een procedure voor het homogeniseren van monsters van stapelbare dierlijke mest en mestproducten, met een droge-stofgehalte van ten minste 30 %. Hierbij wordt uitgegaan van ruwe monsters van 0.5 kg tot 0.8 kg. In de algemene regels is sprake van 1 l materiaal, wat soms maar net 0.5 kg weegt (in geval van veel stro bijvoorbeeld.)

Het monster wordt, afhankelijk van de consistentie, gemengd, deelbemonsterd, gedroogd en gemalen. De droogfactor wordt bepaald.

2 BEWARING VAN HET MONSTER VOOR ANALYSE

- a. Om omzettingen in de monsters te vermijden, moeten die altijd koel bewaard worden (bij een temperatuur van maximum 4°C).
- b. In het geval van ammoniumstikstof bepaling moet het monster ten laatste de dag na monstername in bewerking genomen worden voor analyse.
- c. In het geval van totale stikstof en totale fosfor bepaling moet het monster ten laatste de zevende dag na monstername in bewerking genomen worden voor analyse.

3 REAGENTIA

Gebruik uitsluitend reagentia van analytisch zuivere kwaliteit.

- 3.1 Gedemineraliseerd water
- 3.2 Wijnsteenzuuroplossing $c(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6) = 0.445 \text{ mol/l}$.
Los 667 g wijnsteenzuur op in circa 8 l water en vul aan tot 10 l met water.

4 MATERIAAL

Het gebruikelijke laboratoriumglaswerk en tevens :

- 4.1 Verkleinapparaat
- 4.2 Droogblik
- 4.3 Kunststof mengkaarten, van inert materiaal
- 4.4 Droogschalen
- 4.5 Balans, met een nauwkeurigheid van minstens 1 mg

- 4.6 Doseerapparaat
- 4.7 Droogstoof, ingesteld op een temperatuur van $70^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$
- 4.8 Kruisslagmolen, voorzien van een zeef met openingen met een middellijn van 1 mm.

5 WERKWIJZE

Neem een monster van ten minste 500 g in bewerking. Verwijder mestvreemde voorwerpen.

Maal het gehele monster met het verkleinapparaat (4.1) totdat de monsterdeeltjes kleiner zijn dan 1 cm.

OPMERKING 1

De tijdsduur van het malen is afhankelijk van de aard en de grootte van het monster. Visueel kan worden beoordeeld of de monsterdeeltjes al kleiner zijn dan 1 cm.

Splits het monster in de delen A en B indien in het monster ook één of meer bepalingen in het verse product moeten worden uitgevoerd.

Ga daarvoor als volgt te werk : Verzamel het gemalen monster op een droogblik (4.2), meng en verdeel het monster met een mengkaart (4.3) in twee gelijke porties door herhaalde toepassing van de methode van kwarteren.

Bewaar het deel A dat is bestemd voor een bepaling in het verse product, indien die niet dezelfde dag wordt uitgevoerd, bij 4°C . Ga verder met deel B.

Weeg (4.5) een lege droogschaal (4.4) tot op 0.1 g nauwkeurig (massa m_0) .

Neem met een lepel op ten minste tien verschillende plaatsen van het gemalen en gemengde monster een deelmonster. Breng ongeveer 250 g van het monster in een droogschaal en weeg tot op 0.1 g nauwkeurig (massa m_1).

Voeg met een doseerapparaat (4.6) 300.0 ml wijnsteenzuuroplossing (3.2) toe. Meng met de lepel de toegevoegde hoeveelheid wijnsteenzuuroplossing door het monster tot een homogene suspensie.
Eventueel aanwezige klontjes moeten met de lepel worden fijngewreven.

OPMERKING 2

Wijnsteenzuur wordt toegevoegd om de voorkomen dat ammoniak verdampt tijdens de monstervoorbehandeling door drogen.

Droog bij $70^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ in de droogstoof (4.7) tot luchtdroog. Schep tijdens het drogen het monster met de lepel en keer om. Weeg de droogschaal met inhoud tot op 0.1 g nauwkeurig (massa m_2). Maal het luchtdroge monster met de kruisslagmolen (4.8) en meng.

6 BEREKENING VAN DE DROOGFACTOR

Bij verdere bepalingen, uitgevoerd op dit monster, moet de droogfactor in de uiteindelijke berekeningen worden opgenomen.

Bereken de droogfactor (D) met de vergelijking

$$D = \frac{m_2 - m_3}{m_1 - m_0}$$

waarin :

D is de droogfactor

m_0 is de massa van de lege droogschaal, in g

m_1 is de massa van de droogschaal en vers monster, in g

m_2 is de massa van de droogschaal met inhoud na drogen, in g.

Rond de uitkomst af op 3 decimalen.

Als verkleinapparaat voor stapelbare mest wordt een snijmolen of messenmolen aanbevolen (zie Figuur 15).



Figuur 15 : Snijmolen of messenmolen

Voor monsters met stro wordt het laboratoriummonster gehomogeniseerd door achtereenvolgens verschillende deelmonsters in de snijmolen te brengen tot een voldoende grote representatieve hoeveelheid voor analyse is verkregen.

7 REFERENTIE

NEN 7431 :1998 Dierlijke mest en mestproducten - Monstervoorbehandeling door mengen, drogen en malen - Stapelbare mest

BAM/DEEL 4/03 – VASTE DIERLIJKE MEST – DROGE STOF GEHALTE

1 TOEPASSINGSGEBIED

Het droge stof gehalte (t.o.v. vers materiaal) moet bepaald worden om de omrekening naar vers materiaal mogelijk te maken bij de bepaling van totale fosfor. De methode is van toepassing op monsters voorbehandeld zoals beschreven in BAM/deel 4/02.

2 PRINCIPE

Het drogen van een vooraf vastgelegde hoeveelheid gehomogeniseerd monster bij een temperatuur van $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ gedurende een vastgelegde tijd.

3 APPARATUUR EN MATERIAAL

- 3.1 Droogschalen
of geschikte recipiënten voor een grote hoeveelheid monster. Hierin moet 500 ml monster verdeeld kunnen worden zodat de maximale dikte 2 – 2.5 cm bedraagt.
- 3.2 Droogstoof, mechanisch geventileerd, ingesteld op een temperatuur van $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$
- 3.3 Exsiccator
- 3.4 Balans met een nauwkeurigheid van 0.001 g.
- 3.5 Molen, voor het verkleinen van het gedroogde monster.

4 WERKWIJZE

- a. Er wordt vertrokken van vers materiaal dat niet is voorbehandeld. Om de representativiteit van het monster te garanderen wordt een groot deelmonster genomen (± 500 ml).
- b. De recipiënten (3.1) worden voorbehandeld door ze te drogen in de droogstoof (3.2) bij $105 \pm 5^{\circ}\text{C}$ en te laten afkoelen.
- c. De lege recipiënten worden gewogen (m_0) (3.4).
- d. Breng ongeveer 500 g materiaal in de droogschaal . Opnieuw wegen (m_1).
- e. Schalen in de vooraf verwarmde droogstoof brengen. Drogen gedurende 24 uur bij $105 \pm 5^{\circ}\text{C}$.
- f. Schalen uit de droogstoof nemen en laten afkoelen tot omgevingstemperatuur in het laboratorium. Gezien de omvang van de schalen is het praktisch niet haalbaar om de schalen in een exsiccator te laten afkoelen. De fout die geïntroduceerd wordt door afkoelen in het labo is verwaarloosbaar door de grote hoeveelheid monster.
- g. Opnieuw wegen (m_2)
- h. Maal (3.5) het gedroogde monster tot op 1 mm en homogeniseer

5 OPMERKINGEN

Wegingen gebeuren tot op 0.001 g nauwkeurig.

6 BEREKENINGEN

$$DS = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 1000$$

met

DS droge stof gehalte in kg/1000 kg VM

m_0 massa lege recipiënt in g

m_1 massa recipiënt + vers materiaal in g

m_2 massa recipiënt + droog materiaal in g

7 REFERENTIE

NEN 7432 :1998 Dierlijke mest en mestproducten – Bepaling van de gehalten aan droge stof en organische stof – Gravimetrische methode

BAM/DEEL 4/04 – VASTE DIERLIJKE MEST – TOTALE FOSFOR

1 PRINCIPE

Het monster wordt verast bij 550°C, vervolgens wordt de as opgelost in HNO₃. De bepaling van fosfor in de oplossing gebeurt spectrofotometrisch of met ICP-AES (NBN EN ISO 11885 :2009)⁸. Deze procedure beschrijft enkel de manuele spectrofotometrische bepaling.

2 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering van de vaste dierlijke mest wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 4/01.

De monstervoorbehandeling wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 4/02.

3 APPARATUUR EN MATERIAAL

- 3.1 Verassingsschalen
- 3.2 Oven ingesteld op 550°C ± 25°C
- 3.3 Exsiccator
- 3.4 Verwarmplaat
- 3.5 Asvrij filtreerpapier
- 3.6 Spectrofotometer, ingesteld op een golflengte van 880 nm

4 REAGENTIA

- 4.1 Ascorbinezuuroplossing, 0.57 mol/l :
los 10 g ascorbinezuur (C₆H₈O₆) op in 100 ml water. De oplossing moet kleurloos zijn en is 2 weken houdbaar als ze koel en in een donkere fles gestockeerd wordt.
- 4.2 Ascorbinezuur, 0.23 mol/l :
verdun 40 ml oplossing (4.1) tot 100 ml. Bereid dagelijks een verse oplossing.
- 4.3 Zwavelzuur, (H₂SO₄), 18 mol/l
- 4.4 Ammoniumheptamolybdaattetrahydraat ((NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O), p.a.
- 4.5 Antimoonkaliumtartraathemihydraat (K(SbO)C₄H₄O₆·1/2H₂O), p.a.
- 4.6 Kaliumdiwaterstoffosfaat (KH₂PO₄), p.a.
- 4.7 Ammoniumheptamolybdaattetrahydraat-oplossing, 0.02 mol/l :
voeg aan 150 ml water voorzichtig 120 ml zwavelzuur (4.3) toe. Meng en laat afkoelen. Los 13g ammoniumheptamolybdaattetrahydraat ((NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O) (4.4) op in ongeveer 100 ml water en voeg bij de eerste zwavelzuuroplossing. Los 0.35 g antimoonkaliumtartraathemihydraat (K(SbO)C₄H₄O₆·1/2H₂O)(4.5) op in ±100 ml water en voeg dat bij de andere oplossing. Leng aan tot 500 ml en meng. Bewaard in het donker is die oplossing minstens 2 maanden houdbaar.

⁸ NBN EN ISO 11885 :2009 : Waterkwaliteit - Bepaling van geselecteerde elementen met optische emissiespectrometrie met inductief gekoppeld plasma (ICP-OES) (ISO 11885 :2007).

- 4.8 Stockoplossing fosfor, 50 mg P/l :
droog kaliumdiwaterstoffsosfaat (KH_2PO_4) (4.6) bij 105°C tot constant gewicht.
Laat afkoelen in een exsiccator. Los 0.220 g kaliumdiwaterstoffsosfaat op in 1 l water. Koel bewaard is die oplossing minstens 1 week houdbaar.
- 4.9 Standaard fosfor, 5 mg P/l :
leng 10 ml fosfor stockoplossing (4.8) aan tot 100 ml met water. Bereid dagelijks vers.
- 4.10 HNO_3 , 14 mol/l
- 4.11 HNO_3 , 1 mol/l

5 WERKWIJZE

5.1 Destructieprocedure

- Weeg 1 à 2.5 g droog monster tot op 1 mg nauwkeurig (m).
- Veras dat monster bij 550°C (3.2) gedurende 4 uur. De as moet grijswit zijn.
- Indien de as niet wit kleurt : enkele druppels HNO_3 (4.10) toevoegen en nogmaals verassen gedurende 1 uur.
- Breng de as kwantitatief over in een beker van 100 ml met 20 ml HNO_3 1M (4.11).
- 1 uur laten digesteren op een verwarmplaat (3.4) of in een warmwaterbad
- Filtreren (3.5). Filtraat opvangen in een maatkolf van 100 ml en de filter goed spoelen met 1M HNO_3
- Aanlengen tot 100 ml met 1M HNO_3 (4.11)
- Meestal is verdere verdunning noodzakelijk.

5.2 Spectrofotometrische bepaling

- Voor de kalibratie : pipetteer 0, 1, 2, 3, 4 en 5 ml fosforstandaard (4.9) in maatkolven van 50 ml. Dit komt overeen met 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 en 0.5 mg P/l.
Voor de monsteroplossingen : pipetteer 10 ml monsteroplossing in een kolffje van 50 ml
- Voeg 1 ml ascorbinezuuroplossing (4.2) toe, meng en laat een halve minuut staan.
- Voeg 2 ml ammoniummolybdaatoplossing (4.7) toe, leng aan met water en meng.
- Meet na 20 minuten (3.6) de intensiteit bij 880 nm en noteer de meetwaarde (E_1).
- Voer ook een blancobepaling uit. Dit geeft de waarde E_0 .

6 BEREKENINGEN

Er wordt uitgegaan van een lineair verband tussen de intensiteit en de concentratie. De kalibratie wordt berekend met lineaire regressie. Dit geeft als vergelijking : $y=ax + b$

Met a : helling van de rechte

b : het snijpunt met de Y-as of intercept.

Met die vergelijking kunnen de concentraties van de onbekenden berekend worden. Er wordt blancocorrectie uitgevoerd door de intensiteit van de blanco af te trekken van de intensiteit van het monster. Om de concentratie in het oorspronkelijk deestruaat te kennen moeten alle verdunningen in rekening worden gebracht : 5-voudige verdunning bij de spectrofotometrische bepaling en eventuele bijkomende verdunningen.

De verkregen fosforconcentratie wordt omgerekend naar een concentratie C_P (kg $P_2O_5/1000$ kg) in vers materiaal met de volgende formule.

$$C_P = \frac{C_l \times 5 \times f \times 0.1}{m} \times DS \times 2.29$$

met VM	C_P	concentratie fosfor in het oorspronkelijk monster in kg $P_2O_5/1000$ kg
	C_l	concentratie verkregen uit de ijklijn na blancocorrectie in mg P/l
	f	eventuele verdunningsfactor
	DS	droge stof gehalte bepaald volgens BAM/deel 4/03
	m	massa droog monster dat in bewerking werd genomen in g

7 OPMERKINGEN

- Deze procedure beschrijft de manuele spectrofotometrische bepaling van fosfor. Er bestaan talrijke varianten op die bepalingsmethode evenals geautomatiseerde technieken.
- Deze spectrofotometrische bepaling is in staat lage concentraties fosfor te bepalen. Aangezien de fosforconcentraties in mest veel hoger zijn, moet er sterk worden verdund wat een bijkomende fout introduceert. Als alternatief kan de Scheel methode gebruikt worden die veeleer geschikt is voor hoge concentraties.

BAM/DEEL 4/05 – VASTE DIERLIJKE MEST – AMMONIUMSTIKSTOF

1 PRINCIPE

Bij vaste mest wordt er een extractie met KCl uitgevoerd. In het extract wordt vervolgens ammonium spectrofotometrisch of titrimetrisch na stoomdestillatie bepaald.

2 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering van de vaste dierlijke mest wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 4/01.

De monstervoorbehandeling wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 4/02.

3 EXTRACTIEPROCEDURE

3.1 Apparatuur en materiaal

3.1.1 Schudtoestel

3.1.2 Ploofilter of vergelijkbaar

3.2 Reagentia

3.2.1 Kaliumchloride-oplossing, 1 mol/l : los 74.6 g KCl op in 1 l water.

3.3 Werkwijze

- a. 5 g monster, gedroogd na toevoeging van wijnsteenzuur, zie BAM/deel 4/02, afwegen in een recipiënt op 1 mg nauwkeurig (m).
- b. Voeg 50 ml 1M KCl (3.2.1) toe.
- c. 30 minuten schudden (3.1.1) bij constante temperatuur
- d. Het extract wordt gecentrifugeerd of gefiltreerd. Spoel de filter (3.1.2) met monsteroplossing. Het eerste deel van het filtraat wordt verworpen. Vang het overige filtraat op in een droog recipiënt.

4 BEPALING VAN AMMONIUM IN HET EXTRACT NA STOOMDESTILLATIE

4.1 Principe

Ammonium in een oplossing die alkali-labele stikstof componenten bevat wordt vrijgesteld door toevoeging van MgO. De daarbij gevormde ammoniak wordt door stoomdestillatie vrijgesteld en opgevangen in een overmaat zuur. De hoeveelheid ammonium wordt door terugtitratie bepaald.

Er wordt tijdens de destillatie geen gebruik gemaakt van natriumhydroxide en de destillatieduur wordt zo kort mogelijk gehouden teneinde te vermijden dat alkali-labele organische stikstofverbindingen mee bepaald worden.

4.2 Reagentia

- 4.2.1 Magnesiumoxide :
zuivere MgO gedurende 2 uur gloeien bij 600 à 700°C. Daarna bewaren in een exsiccator samen met KOH of in een goed gesloten potje.
- 4.2.2 Zoutzuur, 12 mol/l HCl
- 4.2.3 Zoutzuur, 0.03 mol/l :
leng 5 ml zoutzuur (4.2.2) aan tot 2 l met water. Deze oplossing moet gesteld worden.
- 4.2.4 Methylroodoplossing, 2 mmol/l :
los 0.5 g methylrood op in 1 l ethanoloplossing; 60% (v/v) ethanol in water
- 4.2.5 Methyleenblauwoplossing, 4 mmol/l :
los 1.5 g methyleenblauw op in ±800 ml water, leng aan tot 1 l en meng.
- 4.2.6 Boorzuurindicatoroplossing, 0.3 mol/l :
los 20 g boorzuur op in warm water. Koel af en voeg 10 ml methylroodoplossing (4.2.4) en 2 ml methyleenblauwoplossing (4.2.5) toe. Breng de pH op 4.6 (omslagpunt van methylrood). Leng aan tot 1 l en meng.

4.3 Apparatuur en materiaal

- 4.3.1 Stoomdestillatietoestel
- 4.3.2 Destillatiebuizen

4.4 Werkwijze

- a. Breng 20 ml extract in de destillatiebuis(4.3.2). Zorg ervoor dat de buis van het destillatietoestel (4.3.1) in de oplossing hangt. Voeg desnoods KCl oplossing toe.
- b. Breng 50 ml boorzuoroplossing (4.2.6) in een erlenmeyer en plaats die zo onder de koeler dat het uiteinde zich onder de vloeistofspiegel bevindt.
- c. Voeg 0.5 g MgO (4.2.1) toe aan de destillatiebuis.
- d. Begin onmiddellijk de stoomdestillatie.
- e. Destilleer tot minstens 100 ml overgekomen is, stop dan de destillatie.
- f. Titreer het destillaat met de gestelde HCl oplossing (4.2.3) tot kleuromslag (V_1). Er kan ook worden getitreerd met behulp van een pH meter. Titreer in dat geval tot pH 4.6.
- g. Voer dezelfde procedure uit voor een blanco-oplossing en titreer (V_0)

4.5 Berekeningen

Hierbij moet rekening gehouden worden met de voorbehandeling van de monsters.

Het resultaat wordt uitgedrukt als stikstofconcentratie C_N (kg N/1000 kg) in vers materiaal met de volgende formule.

$$C_N = 14.007 \times \frac{(V_1 - V_0) \times C_{HCl}}{m} \times D \times \frac{V_{ext}}{20}$$

waarin :

C_N : concentratie ammonium in het oorspronkelijke monster in kg N/1000 kg VM
 V_1 : volume bij titratie van het monster in ml
 V_0 : volume bij titratie van de blanco in ml
 m : massa van het monster dat in bewerking werd genomen in g
 C_{HCl} : concentratie van het zoutzuur in mol/l
 D : droogfactor bepaald in BAM/deel 4/02
 $V_{ext}/20$: verdunningsfactor bij de bepaling, gelijk aan de totale hoeveelheid extract, gedeeld door het volume (20 ml) dat genomen werd voor destillatie.

5 SPECTROFOTOMETRISCHE BEPALING VAN AMMONIUM IN HET EXTRACT

De spectrofotometrische bepaling van ammonium in een extract kan manueel of met een doorstroomanalysesysteem gebeuren volgens :

- NBN EN ISO 11732 :2005 Waterkwaliteit - Bepaling van ammoniakale stikstof door stroomanalyse (CFA en FIA) en spectrometrische detectie (ISO 11732 :2005)
- ISO 7150-1 :1984 Water quality - Determination of ammonium - Part 1 : Manual spectrometric method
- NEN6604 :2007 Water – Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie

5.1 Berekeningen

Spectrofotometrische methodes gebruiken een ijklijn om de concentratie van onbekenden te bepalen. Bepaal de ammoniumconcentratie in het extract na blancocorrectie en houd daarbij rekening met eventuele verdunningen.

Het resultaat wordt uitgedrukt als stikstofconcentratie C_N (kg N/1000 kg) in vers materiaal met de volgende formule.

$$C_N = \frac{C_I \times V_{ext}}{m} \times D$$

waarin :

C_N : concentratie ammonium in het oorspronkelijk monster in kg N/1000 kg VM
 C_I : concentratie ammonium in het extract na blancocorrectie in mg N/l
 m : massa monster dat geëxtraheerd werd in g
 V_{ext} : totaal volume extract in l
 D : droogfactor bepaald in BAM/deel 4/02

BAM/DEEL 4/06 – VASTE DIERLIJKE MEST – TOTALE STIKSTOF

1 PRINCIPE

Er wordt van uitgegaan dat verse vaste dierlijke mest geen nitraat of nitriet bevat. De bepaling van totale stikstof bij verse vaste dierlijke mest beperkt zich dus tot Kjeldahl stikstof (NEN 7437 :1998, mits enkele wijzigingen). De bepaling van Kjeldahl stikstof omvat een destructie met H_2SO_4 en een katalysatormengsel waarbij organische stikstofverbindingen worden omgezet naar ammonium. Na destructie wordt ammoniak vrijgesteld door toevoegen van natriumhydroxide en overgedestilleerd in een geschikte absorptievloeistof. In dat destillaat wordt vervolgens ammoniak bepaald met een titratie of spectrofotometrisch.

Wanneer de analyse uitgevoerd wordt op andere mestproducten dan verse mest, dan mag er niet van uitgegaan worden dat die producten geen nitraat of nitriet bevatten. In dat geval moet voor de bepaling van totale stikstof de niet-gemodificeerde methode voor de bepaling van totale N toegepast worden volgens NEN 7437 :1998 Dierlijke mest en mestproducten - Bepaling van het gehalte aan totaal stikstof. De totale N mag eveneens bepaald worden uit de som van de Kjeldahl stikstof en de afzonderlijk bepaalde nitraat- en nitrietstikstof.

Deze BAM procedure beschrijft de Kjeldahl-N bepaling in verse vaste dierlijke mest.

2 BEMONSTERING EN MONSTERVOORBEHANDELING

De bemonstering van de vaste dierlijke mest wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 4/01.

De monstervoorbehandeling wordt uitgevoerd zoals beschreven in BAM/deel 4/02.

3 REAGENTIA

3.1 H_2SO_4 , 18M

3.2 Zoutzuur, 0.2 mol/l :

leng 16 tot 17 ml geconcentreerd zoutzuur aan tot 1l. Deze oplossing moet gesteld worden.

3.3 Methylroodoplossing, 2 mmol/l :

los 0.5 g methylrood op in 1 l ethanoloplossing; 60% (v/v) ethanol in water

3.4 Methyleenblauwoplossing, 4 mmol/l :

los 1.5 g methyleenblauw op in ± 800 ml water, leng aan tot 1 l en meng.

3.5 Boorzuurindicatoroplossing, 0.3 mol/l :

los 20 g boorzuur op in warm water. Koel af en voeg 10 ml methylroodoplossing (3.3) en 2 ml methyleenblauwoplossing (3.4) toe. Breng de pH op 4.6 (omslagpunt van methylrood). Leng aan tot 1 l en meng.

3.6 Natriumhydroxideoplossing, 9 mol/l :

los 360 g natriumhydroxide op in ± 800 ml water. Afkoelen, aanlengen tot 1 l en mengen.

- 3.7 Katalysator :
100 g kaliumsulfaat (K_2SO_4) en 10 g kopersulfaatpentahydraat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) : maal en meng (NEN 7437).
- 3.8 Antischuimmiddel

4 APPARATUUR EN MATERIAAL

- 4.1 Destructiebuizen van 250 ml
- 4.2 Destructieblok, voor een temperatuur van 370 – 380°C
- 4.3 Destillatie-opstelling, geschikt voor de aansluiting van 250 ml destructiebuizen
- 4.4 Kooksteentjes

5 WERKWIJZE

5.1 Monstername

Vertrek van een monster dat is voorbehandeld volgens BAM/deel 4/02. Een bepaalde hoeveelheid monster wordt afgewogen tot op 1 mg nauwkeurig (massa m) in een destructiebuis (4.1). Voor vaste mest wordt een monster genomen na drogen met wijnsteenzuur. De hoeveelheid die in bewerking wordt genomen bevat maximaal 1 g droge stof en een geschat stikstofgehalte van ten minste 2 mg en ten hoogste 100 mg.

5.2 Destructie

- Voeg 20 ml H_2SO_4 (3.1) toe en meng.
- Voeg 5 g katalysatormengsel (3.7) toe.
- Voeg antischuimmiddel (3.8) toe. Verwarm langzaam tot de vloeistof zachtjes kookt. Let op voor overmatig schuimen. Verwarm zo dat het zwavelzuur condenseert ongeveer halverwege de destructiebuis. Kook nadat de vloeistof helder wordt nog 15 minuten
- De optimale destructietemperatuur is 370 à 380 °C. Bij lagere temperatuur is de destructie onvolledig, bij hogere treden verliezen op.
- Laat de vloeistof na destructie afkoelen en verdun met 50 ml water.

5.3 Bepaling

- Breng in een kolf 50 ml boorzuurindicatoroplossing (3.5). Plaats de kolf onder de koeler zodat de uitstroomopening zich onder de vloeistofspiegel bevindt.
- Voeg aan het destruaat in de destructiebuis 50 ml natriumhydroxide-oplossing (3.6) toe en sluit de buis onmiddellijk aan op het destillatietoestel.
- Destilleer met een snelheid van ± 10 ml/minuut tot alle ammoniak overgedestilleerd is.
- Titreer de inhoud van de kolf met gesteld zoutzuur (3.2) tot de kleur omslaat van groen naar paars-violet. Noteer het gebruikte volume (V_1).
- Voer de hele procedure uit voor een blanco. Noteer het volume voor dat blancodestruaat (V_0).

Alternatief kan de bepaling van ammonium in het destillaat spectrofotometrisch worden uitgevoerd, mits een geschikte absorptievloeistof wordt gebruikt, volgens :

- NBN EN ISO 11732 :2005 Waterkwaliteit - Bepaling van ammoniakale stikstof door stroomanalyse (CFA en FIA) en spectrometrische detectie (ISO 11732 :2005)
- ISO 7150-1 :1984 Water quality - Determination of ammonium - Part 1 : Manual spectrometric method
- NEN6604 :2007 Water – Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie

6 OPMERKINGEN

Er bestaan verscheidene varianten op deze methode. Ze zijn bruikbaar voor zover zij niets fundamenteel wijzigen aan de gegeven procedure.

Andere katalysatoren kunnen ook gebruikt worden. Doorgaans zijn die katalysatoren commercieel verkrijgbaar als tabletten. Enkele varianten zijn :

- 200 g kaliumsulfaat (K_2SO_4), 6 g kopersulfaatpentahydraat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) en 6 g titaandioxide (TiO_2) : maal en meng (ISO 11261⁹).
- 20 g seleenpoeder, 15 g kopersulfaat ($CuSO_4$) en 950 g Na_2SO_4 , goed mengen (WAC/III/D/030).

7 BEREKENINGEN

Het resultaat wordt uitgedrukt als stikstofconcentratie C_N (kg N/1000 kg) in vers materiaal met de volgende formule.

$$C_N = M_N \times \frac{(V_1 - V_0) \times C_{HCl}}{m} \times D$$

waarin :

C_N	concentratie stikstof in het oorspronkelijke monster in kg N/1000 kg VM
M_N	de molaire massa van stikstof (14,007 g/mol)
V_1	gebruikte hoeveelheid zoutzuur bij titratie van het monster in ml
V_0	gebruikte hoeveelheid zoutzuur bij titratie van de blanco in ml
m	massa van het analysemonster in g
C_{HCl}	de concentratie van het zoutzuur in mol/l
D	de droogfactor bepaald in BAM/deel 4/02

8 REFERENTIE

NEN 7437 :1998 Dierlijke mest en mestproducten - Bepaling van het gehalte aan totaal stikstof (mits enkele wijzigingen)

⁹ ISO 11261 :1995 Soil quality - Determination of total nitrogen - Modified Kjeldahl method

BAM/DEEL 4/20 – VASTE DIERLIJKE MEST – RAPPORTERING

De volgende gegevens moeten vermeld worden op het analyserapport :

1 ALGEMEEN

- a. Briefpapier van het laboratorium met minimaal vermelding van naam, adres, telefoon, fax, e-mail
- b. Uniek rapportnummer
- c. Uniek nummer monster en nummer monster toegekend door de mestbank (indien van toepassing)
- d. Datum van de analyse
- e. Datum verzending rapport
- f. Naam en handtekening van de verantwoordelijke van het laboratorium (mag eventueel digitaal)
- g. Naam en adres van degene aan wie het rapport bezorgd wordt

2 BETREFFENDE DE MONSTERNAME

- a. Naam van de monsternemer. Als het laboratorium specifieke identificatienummers hanteert voor hun monsternemers, worden die eveneens op het verslag vermeld.
- b. Indien het monster niet genomen werd door een monsternemer verbonden aan het laboratorium, moet dat uitdrukkelijk vermeld worden op het analyserapport.
- c. Datum van de monstername
- d. Opdrachtgever aanwezig bij de monstername (J/N)
- e. Omschrijving van de plaats van monstername (bijvoorbeeld mesthoop, loods, container, batterijstal, stal met grondhuisvesting met/zonder beun, ...)

3 ALGEMENE INLICHTINGEN BETREFFENDE DE AARD VAN HET MONSTER

Het type mest of mestproduct moet minstens vermeld worden (bijvoorbeeld zeugenstalmest, vleesvarkensstalmest, runderstalmest, slachtkuikenmest, dikke fractie varkensmest ...).

4 EENHEDEN

Droge stof :	kg/1000 kg VM
Ammonium :	kg N/1000 kg VM
Totale stikstof :	kg N/1000 kg VM
Totale fosfor :	kg P ₂ O ₅ /1000 kg VM

BAM/DEEL 7/00 – VERWERKTE MEST – TOEPASSINGSGEBIED

Zowel voor het erkennen van biogas- en composteerinstallaties als voor het in de handel brengen van verwerkte mest en verwerkte producten uit mest moeten ondermeer microbiologische analyses aantonen dat aan de eisen beschreven in de Verordening (EG)Nr. 1774/2002 van het Europees Parlement en de Raad van 3 oktober 2002 tot vaststelling van gezondheidsvoorschriften inzake niet voor menselijke consumptie bestemde dierlijke bijproducten, en de onderstaande wijzigingen, voldaan is.

De verordening bepaalt dat voor de erkenning van biogas- en composteerinstallaties, de gistingsresiduen en compost moeten voldoen aan bepaalde normen (Bijlage VI – Hoofdstuk II – D – 15) :

Representatieve monsters van de gistingsresiduen of de compost, die tijdens of onmiddellijk na de verwerking in het biogas- of compostproductiebedrijf worden genomen om het proces te bewaken, moeten aan de volgende normen voldoen :

Escherichia coli : $n = 5$, $c = 1$, $m = 1000$, $M = 5000$ in 1g;
of

Enterococcaceae : $n = 5$, $c = 1$, $m = 1000$, $M = 5000$ in 1 g;

en

representatieve monsters van de gistingsresiduen of de compost, die tijdens de opslag bij het biogas- of compostproductiebedrijf of bij de uitslag van die producten uit de betrokken bedrijven worden genomen, moeten aan de volgende normen voldoen :

Salmonella : geen in 25 g : $n = 5$, $c = 0$, $m = 0$, $M = 0$

waarbij

n = aantal te testen monsters;

m = drempelwaarde voor het aantal bacteriën; het resultaat wordt als bevredigend beschouwd als het aantal bacteriën in geen geval groter is dan m ;

M = maximumwaarde voor het aantal bacteriën, het resultaat wordt als onbevredigend beschouwd als het aantal bacteriën in één of meer monsters gelijk is aan of hoger ligt dan M ; en

c = aantal monsters waarvoor de bacterietelling een resultaat tussen m en M te zien mag geven en waarbij het monster nog als aanvaardbaar wordt beschouwd als het resultaat van de bacterietelling voor de overige monsters niet hoger is dan m .

De verordening bepaalt dat voor het in de handel brengen van verwerkte mest en verwerkte producten uit mest, die moeten voldoen aan bepaalde normen (Bijlage VIII – Hoofdstuk III – II – 5 – d) :

1. Representatieve monsters van de mest, die tijdens of onmiddellijk na de verwerking in het bedrijf worden genomen om het proces te bewaken, moeten aan de volgende normen voldoen :

Escherichia coli : $n = 5$, $c = 5$, $m = 0$, $M = 1000$ in 1g;
of
Enterococcaceae : $n = 5$, $c = 5$, $m = 0$, $M = 1000$ in 1g;

en

representatieve monsters van de mest, die tijdens de opslag bij het technisch, biogas- of compostproductiebedrijf of bij de uitslag van die producten uit de betrokken bedrijven worden genomen, moeten aan de volgende normen voldoen :

Salmonella : geen in 25 g : $n = 5$, $c = 0$, $m = 0$, $M = 0$

waarbij

n = aantal te testen monsters;

m = maximumwaarde voor het aantal bacteriën, het resultaat wordt als onbevredigend beschouwd als het aantal bacteriën in één of meer monsters gelijk is aan of hoger ligt dan M ; en

c = aantal monsters waarvoor de bacterietelling een resultaat tussen m en M te zien mag geven en waarbij het monster nog als aanvaardbaar wordt beschouwd als het resultaat van de bacterietelling voor de overige monsters niet hoger is dan m .

2. de verwerkte mest en verwerkte producten uit mest moeten een behandeling hebben ondergaan waarbij sporenvormers en toxinevorming worden onderdrukt. Hiertoe moet een representatief monster voldoen aan de volgende norm : afwezigheid van *Clostridium perfringens* in 1 gram verwerkte mest.

Het uitvoerend laboratorium moet erop toezien dat de monsterneming- en analyse steeds volgens de hieronder beschreven methodologie gebeurt en draagt daarvoor ook de verantwoordelijkheid.

BAM/DEEL 7/01 – VERWERKTE MEST – BEMONSTERING

1 TERMEN EN DEFINITIES MONSTERNEMING

- a. *Greep* : een hoeveelheid materiaal die bij de monsternaming in één handeling uit de partij is genomen, maar voor analyse met andere grepen wordt samengevoegd tot een mengmonster.
- b. *Bemonsteringspunt* : plaats in de partij waar een greep genomen wordt.
- c. *Monster* : een portie materiaal dat geselecteerd werd uit een grotere hoeveelheid materiaal.
- d. *Mengmonster* : de hoeveelheid materiaal die ontstaat doordat meerdere grepen worden samengevoegd. De identiteit van de oorspronkelijke grepen gaat door die menging verloren.
- e. *Laboratoriummonster* : een monster bedoeld voor laboratoriuminspectie of -test
Opmerking : het laboratoriummonster is het finale monster vanuit het standpunt van de monsternaming maar is het initiële monster vanuit het standpunt van het laboratorium.
- f. *Monstervoorbehandeling* : een gemeenschappelijke naam voor alle procedures en handelingen gebruikt om het in gewenste toestand brengen van een monster dat daaropvolgend kan onderzocht, geanalyseerd of bewaard worden.
- g. *Mengen* : het combineren van componenten, deeltjes of lagen in een meer homogene toestand.
- h. *Partij* : een afgebakende hoeveelheid materiaal die onder uniforme condities werd geproduceerd

2 RICHTLIJNEN MONSTERNEMING

2.1 Partij en partijafbakening

In het kader van analyses op verwerkte mest zal de bemonstering veelal geschieden vanuit voorraadhopen met opgeslagen mestproducten. Voorraadhopen worden aangeduid als “statische partijen”. Ook opgeslagen materiaal in bunkers, containers, loodsen, laadeenheden enzovoort valt onder die noemer.

De partij wordt eenduidig beschreven door o.a. de dimensies van de partij en vaststelling van de aard van het materiaal. De dimensies worden vastgelegd aan de hand van grondoppervlak en hoogte. De partij kan verder nog beschreven worden aan de hand van typische kenmerken, zoals korrel- of stukgrootte, kleur,...

Indien er op één locatie meerdere partijen worden aangetroffen, moet tussen de verschillende partijen een onderscheid worden gemaakt : de partijen worden afgebakend. Om het fenomeen van ‘wegverdunnen’ van bepaalde eigenschappen bij bemonstering van meerdere (kleine) partijen te voorkomen, worden afzonderlijke partijen voor microbiologische karakterisering dus niet als één partij beschouwd. Als vuistregel geldt dat elke afgebakende partij afzonderlijk bemonsterd wordt. Elke opslageenheid wordt dus als een afzonderlijke partij beschouwd. D.w.z. dat elke hoop, container, vrachtwagen, silo, laadeenheid, ... in principe afzonderlijk bemonsterd wordt, zelfs als die een gelijkaardige lading bevatten. Als binnen één opslageenheid nog onderscheid kan worden gemaakt tussen verschillende soorten mestproducten, visueel en/of op basis van ontstaan, herkomst of soort mest, worden de partijen afzonderlijk bemonsterd.

Rekening houdend met de praktische haalbaarheid van de monsterneming, geldt voor de partijgrootte een maximum van 1000 m³. Partijen groter dan 1000 m³ worden in twee of meerdere (min of meer gelijke) deelpartijen opgesplitst. Elke deelpartij (maximaal 1000 m³) wordt vervolgens afzonderlijk bemonsterd.

Het is zeker zinvol om de partij en/of situatie fotografisch vast te leggen, eventueel met een herkenbaar voorwerp om de locatie en/of dimensies weer te geven

2.2 Monster

Het doel van de monsterneming, zoals beschreven in deze procedure, is monsters te nemen met een gemiddelde samenstelling die representatief zijn voor de hele hoop mest of mestproducten.

Voor de bepaling van *Escherichia coli*, *Enterococcaceae* en *Salmonella* bepaalt de Verordening dat er telkens 5 representatieve monsters moeten getest worden. Dit betekent dat voor de bepaling van die parameters 5 onafhankelijke en afzonderlijke mengmonsters, samengesteld uit meerdere grepen (zie ook punt 2.3.4), genomen en geanalyseerd moeten worden.

Voor de bepaling van *Clostridium perfringens* wordt per monsternamen één mengmonster genomen dat samengesteld is uit meerdere grepen (zie ook punt 2.3.4) die op verschillende plaatsen in de hoop mestproducten (bemonsteringspunten) genomen worden

De monsterhoeveelheid van een laboratoriummonster is afhankelijk van de korrelgrootte waarin de verwerkte mestproducten aangeboden worden. Dit om de representativiteit van het monster ten opzichte van de oorspronkelijke partij te garanderen.

- a. < 10 mm : 0.2 liter bij 5 mengmonsters, 1 liter bij 1 mengmonster
- b. 10-40 mm : 0.6 liter bij 5 mengmonsters, 3 liter bij 1 mengmonster
- c. >40 mm : 1 liter bij 5 mengmonsters, 5 liter bij 1 mengmonster

2.3 Aantal, plaats en hoeveelheden grepen

2.3.1 Aantal grepen

Per monsternamen worden standaard 20 grepen genomen. Een greep is de hoeveelheid (mest)product dat op een bepaalde plaats (bemonsteringspunt) in één handeling genomen kan worden (bijvoorbeeld één schep, boorsteek, boring). Hoe groter de partij echter, des te meer grepen er worden genomen om een representatief monster te verkrijgen. Voor partijen groter dan 50 m³ wordt het aantal opgedreven tot minimaal 30 grepen. Voor zeer kleine partijen (<20 m³) volstaan 10 grepen.

- a. Standaard : 20 grepen
- b. Partijen >50 m³ : 30 grepen
- c. Partijen <20 m³ : 10 grepen

De voorgestelde hoeveelheden en aantallen gelden steeds als minimumvoorwaarde. Meer grepen komen de representativiteit van het monster ten goede.

2.3.2 Greepgrootte

Om elk individueel materiaaldeelje in de partij dezelfde kans te geven om bemonsterd te worden, wordt de grootte van een greep aangepast aan de korrelgrootte van het te bemonsteren mestproduct. Des te grover het materiaal, des te groter de greep genomen wordt.

Dit heeft tevens als gevolg dat de gebruikte bemonsteringsapparatuur aangepast moet zijn aan de korrelgrootte van het te bemonsteren materiaal. Bij afspraak wordt de opening van de boor of schep, zo mogelijk, ca. 2 à 3 keer groter genomen dan de grootste materiaalkorrel.

Als de korrelgrootte < 10 mm is een gutsboor het aangewezen hulpmiddel. Materialen met grotere korrelgrootte worden bemonsterd met een schep. Zorg ervoor dat de opening van de schep groot genoeg is m.b.t. de korrelgrootte van het te bemonsteren mestproduct. De schep heeft bij voorkeur rechtopstaande randen zodat het materiaal tijdens het scheppen niet kan terug vallen. Omgekeerd wordt het overtollig materiaal boven de randen van de guts of schep verwijderd (bijvoorbeeld met een spatel) aangezien dat niet tot de greep behoort.

Qua hoeveelheden worden per greep de volgende richtlijnen vooropgesteld :

- a. Voor korrelgroottes <10 mm : ca. 100 ml
- b. Voor korrelgroottes >10 mm : ca. 1,5 liter

2.3.3 Plaats grepen (bemonsteringspunten)

De verschillende bemonsteringspunten worden gelijkmatig ruimtelijk verspreid over de omtrek van de partij. Bij afspraak worden de grepen genomen op menshoogte, tussen 0 en 150 cm hoogte t.o.v. de grond. De ruimtelijke spreiding van de grepen moet zowel in horizontale, als in verticale zin, homogeen zijn

Voor de bepaling van *Escherichia coli*, *Enterococcaceae* en *Salmonella* wordt de partij vooraf in 5 segmenten verdeeld. Uit elk segment wordt een gelijk aantal grepen genomen resulterend in een mengmonster.

Het bemonsteren van afgesloten of half afgesloten opslagseenheden zoals vrachtwagens, containers, bunkers en opslagloodsen, zorgt voor een extra moeilijkheid inzake toegankelijkheid/bereikbaarheid en homogene spreiding van de grepen. Voorraadhoppen zijn (meestal) toegankelijk langs de volledige omtrek; vrachtwagens, containers zijn slechts langs één zijde toegankelijk (dikwijls de bovenkant). De grepen kunnen bijgevolg enkel langs de toegankelijke zijde genomen worden, waarbij de representativiteit van het monster natuurlijk beïnvloed wordt. Waar de voorraadhoop horizontaal bemonsterd wordt, zal een container of vrachtwagen verticaal bemonsterd moeten worden, wat de moeilijkheidsgraad van de monsterneming nog verhoogt. In dergelijke gevallen zal eventueel overgegaan moeten worden naar andere, meer gespecialiseerde bemonsteringsapparatuur (bijvoorbeeld grondboor voor niet-cohesief materiaal).

Zorg ervoor dat de monsterneming steeds volledig beschreven en gedocumenteerd wordt, zeker als de monsterneming beperking qua toegankelijkheid met zich meebrengt (bijvoorbeeld wanneer slechts langs 2 zijden van de hoop bemonsterd kon worden).

2.3.4 Samenvoegen van de grepen

Voor de bepaling van *Escherichia coli*, *Enterococcaceae* en *Salmonella* moeten er 5 representatieve monsters getest worden. De 5 onafhankelijke en afzonderlijke mengmonsters voor de bepaling van die parameters worden samengesteld uit telkens 1/5^{de} van de verzamelde grepen. Daarbij worden telkens de opeenvolgende grepen samengevoegd. Wanneer bijvoorbeeld 20 grepen genomen moeten worden, worden de grepen 1 t.e.m. 4 samengevoegd, de grepen 5 t.e.m. 8, etc.

Voor de bepaling van *Clostridium perfringens* wordt per monsternamen één mengmonster genomen dat samengesteld is uit alle genomen grepen (standaard 20 grepen).

3 BENODIGDHEDEN

De uitrusting en recipiënten moeten rein en steriel zijn (steriel aangekocht of gesteriliseerd door natte of droge sterilisatie of met ethanol gereinigd).

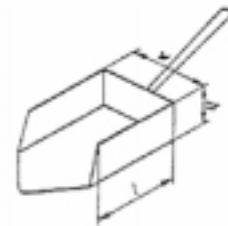
- a. zuivere schop of schep, bij voorkeur met rechtopstaande randen (bijvoorbeeld met opening van minimaal 12 cm) : zie Figuur 16
- b. gutsboor : zie Figuur 17 (doorgaans wordt een gutsboor met dia 30 mm en nuttige lengte van 60 cm gebruikt). Eventueel met bijhorende spatel om de inhoud uit de boor te schrappen
- c. handschep, bij voorkeur met rechtopstaande randen : zie Figuur 18
- d. (stevige) handschoenen (of draag 2 paar wegwerphandschoenen over elkaar)
- e. verzamelrecipiënt waarin de grepen kunnen worden verzameld (kan evt. ook voor homogenisatie gebruikt worden) : droge, zuivere schaal, bak of emmer
- f. homogenisatieschaal of –zeil
- g. handschepje voor homogeniseren, verdelen en vullen van monsterrecipiënten
- h. monsternamenzak (plastic) of monsterrecipiënt met deksel (met inhoud 1, 3 of 5 liter, afhankelijk van de korrelgrootte van het te bemonsteren mest(product))
- i. dikke stift en/of (voorgedrukte) etiketten voor het identificeren van de monsternamenzakken – of recipiënten
- j. inlichtingsformulieren voor opgave van de gegevens van het monster
- k. koelbox en koelelementen
- l. indien nodig : een wiellader/shovel met laadschop en chauffeur



Figuur 16 : bemonsteringsschep met rechtopstaande rand



Figuur 17 : gutsboor



Figuur 18 : handschep

4 UITVOERING MONSTERNEMING

4.1 Algemeen

Voor de bemonstering van verwerkte mestproducten worden 5 mengmonsters genomen voor de bepaling van *Escherichia coli*, *Enterococcaceae* en *Salmonella* en één mengmonster voor de bepaling van *Clostridium perfringens*, bestaande uit meerdere grepen. De monsterneming kan manueel, met behulp van gutsboor of schep/schep (zie werkwijze punt 4.2) uitgevoerd worden, of in combinatie met transportmiddelen zoals wielladers, shovels (zie werkwijze punt 4.3). De gecombineerde methode biedt het voordeel dat met een wiellader tot in de kern van de hoop bemonsterd kan worden, waarbij de manuele methode de bemonstering zich beperkt tot de buitenste laag van de partij. Met name voor grotere partijen (>50 m³) biedt de gecombineerde methode (met wiellader) de voorkeur omdat een hogere mate van representativiteit van het monster t.o.v. de partij verkregen wordt.

De genomen grepen worden ter plaatse samengevoegd zoals bepaald in punt 2.3.4 en gemengd tot een homogeen mengmonster. Het mengmonster wordt indien mogelijk in zijn geheel in het monsterrecipiënt gebracht. Als de monsterhoeveelheid van het mengmonster te groot is om het in zijn geheel over te brengen in het monsterrecipiënt, wordt de hoeveelheid mengmonster vooraf gereduceerd (door kwarteren) tot de benodigde hoeveelheid materiaal voor bereiding van het laboratoriummonster.

Alle voorbereidingen en handelingen moeten gebeuren volgens aseptische technieken en met steriel materiaal om een microbiologische contaminatie via uitwendige bronnen van de monsters te vermijden. De uitrusting en recipiënten moeten rein en steriel zijn. Ze zijn steriel aangekocht of gesteriliseerd door natte of droge sterilisatie of met ethanol gereinigd. Een koelbox is nodig voor het transport.

4.2 Manuele werkwijze bemonstering met gutsboor of schep

De manuele monsternemingsmethode is toepasbaar voor bemonstering van partijen tot 1000 m³. Voor partijen >50 m³ wordt evenwel de voorkeur gegeven aan een monsterneming m.b.v. een wiellader (punt 4.3).

- a. Bereken het volume van de te bemonsteren partij door een schatting te maken van het grondoppervlak en de gemiddelde hoogte. Aangepast aan de omvang van partij worden minimaal 10 (partij $< 20 \text{ m}^3$), 20 of 30 (partij $> 50 \text{ m}^3$) grepen genomen.
- b. Neem een greep met een gutsboor (korrelgrootte $< 10 \text{ mm}$) of schep/schop met aangepaste opening (korrelgrootte $> 10 \text{ mm}$). Duw de schep/schop of boor zo ver mogelijk schuin omhoog in het materiaal. Zorg ervoor dat de schep of boor volledig gevuld is, en dat alle grepen ongeveer dezelfde grootte hebben.
- c. Tracht op verschillende dieptes een greep te nemen : neem de helft van de grepen aan het oppervlak (bijvoorbeeld oneven aantal grepen), en de andere helft (bijvoorbeeld even aantal) op minstens 30 cm diepte in de hoop. Schep voor die laatste met een schop op het gekozen bemonsteringspunt de bovenlaag van de hoop weg (ongeveer 30 cm) zodat het dieper gelegen materiaal bereikbaar is. Logischerwijze is de indringingsdiepte van een gutsboor (afhankelijk van het gebruikte type en lengte) groter dan die bij gebruik van een schop/schep.
- d. Haal de gevulde schep of boor uit het materiaal. Verwijder het overtollige materiaal dat bovenop de guts of schep ligt (het behoort niet tot de greep). Verzamel de grepen in de verzamelbak, -schaal of emmer. Bij gebruik van een gutsboor : neem een spatel om de inhoud van boven naar onder uit de boor te schrapen (randen gutsboor zijn scherp!).
- e. Herhaal die handeling op de verschillende bemonsteringspunten, zodat de hoop mest of (verwerkte) mestproducten uniform bemonsterd wordt.
- f. De verschillende bemonsteringspunten worden gelijkmatig ruimtelijk verspreid over de omtrek van de partij. Bij afspraak worden de grepen genomen op menshoogte, tussen 0 en 150 cm hoogte t.o.v. de grond. De ruimtelijke spreiding van de grepen moet zowel in horizontale, als in verticale zin, homogeen zijn. Neem geen onnodige risico's door op of over de hoop te lopen voor onbereikbare of slecht bereikbare bemonsteringspunten.
- g. Verzamel de grepen in een emmer, -schaal of bak. Aangezien er voor de bepaling van *Escherichia coli*, *Enterococcaceae* en *Salmonella* 5 representatieve monsters verzameld moeten worden, samengesteld uit de verschillende grepen zoals bepaald in punt 2.3.4, moeten er dus 5 afzonderlijke verzamelrecipiënten voorzien worden.

4.3 Werkwijze bemonstering met behulp van wiellader/shovel/bulldozer

Deze gecombineerde monsternemingsmethode is toepasbaar voor partijen tot 1000 m^3 . Voor partijen $> 50 \text{ m}^3$ is dat de meest aangewezen methode.

Stap 1

- a. Neem met de wiellader op 5 verschillende representatieve plaatsen in de partij een vracht of laadschop. Om tot de bulk van een grote partij te komen, worden met de wiellader eerst enkele vrachten materiaal uit de partij verwijderd. De verwijderde vrachten behoren niet tot de monsterneming; slechts de volgende laadschop uit de bulk van het materiaal wordt in rekening gebracht voor de monsterneming.
- b. De plaatsen waar met de wiellader wordt geschept, worden, indien mogelijk, ruimtelijk gespreid over de partij (bijvoorbeeld aan weerszijde van de partij).
- c. De laadschopvrachten worden elk afzonderlijk naast de partij op een schone, inerte ondergrond gestort, en vormen zo 5 subpartijen.
- d. Homogeniseer elke subpartij door die enkele malen met de wiellader om te scheppen (opscheppen – uitspreiden in een laag – terug opscheppen - uitspreiden enz.).
- e. Spreid de subpartij vervolgens vlak uit in een laag van maximum 50 cm.

Stap 2

- a. Neem met een schep/schop 1/5 van de nodige grepen (punt 2.3.1) uit die subpartij. Verdeel die grepen homogeen over het bovenoppervlak van de subpartij.
- b. Zorg ervoor dat de schep volledig gevuld is, en dat alle grepen ongeveer dezelfde grootte hebben. Verwijder eventueel het overtollige materiaal dat bovenop de schop/schep ligt (het behoort niet tot de greep).
- c. Herhaal die handeling op de andere subpartijen, zodat de hoop mestproducten uniform bemonsterd wordt.
- d. Verzamel de grepen in een emmer, -schaal of bak. Aangezien er voor de bepaling van *Escherichia coli*, *Enterococcaceae* en *Salmonella* 5 representatieve monsters verzameld moeten worden, samengesteld uit de verschillende grepen zoals bepaald in punt 2.3.4, moeten er dus per subpartij 5 afzonderlijke verzamelrecipiënten voorzien worden.

4.4 Homogeniseren en bereiden van de laboratoriummonsters

De genomen grepen worden ter plaatse samengevoegd zoals bepaald in punt 2.3.4 en gemengd tot een homogeen mengmonster. Het mengmonster wordt indien mogelijk in zijn geheel in het monsterrecipiënt gebracht. Als de monsterhoeveelheid van het mengmonster te groot is om het in zijn geheel over te brengen in het monsterrecipiënt, wordt de hoeveelheid mengmonster vooraf gereduceerd (door kwarteren) tot de benodigde hoeveelheid materiaal voor bereiding van het laboratoriummonster.

a. Homogeniseren :

Hierbij worden alle grepen uit de partij uitgespreid op een inerte ondergrond. Gebruik daarvoor een steriele plastic schaal, zeil (een emmer is minder geschikt voor het verdere verdelen/kwarteren). Gebruik voor het mengen een steriele schep of grotere schop.

Een goede homogenisatietechniek bestaat erin het materiaal op te hopen door de buitenzijden van het materiaal telkens naar het midden toe te scheppen. De gevormde hoop wordt daarna afgeplat en terug uitgespreid. Deze werkwijze wordt enkele malen herhaald.

Een andere werkwijze bestaat erin het materiaal enkele keren van één hoop naar een andere hoop te scheppen. Gebruik daarvoor eventueel 2 schalen of zeilen (of een combinatie van beide) als de hoeveelheid materiaal te groot is om dat binnen één oppervlak te realiseren.

b. Reduceren m.b.v. kwarteertechniek :

Spreid het gehomogeniseerde mestmonster cirkelvormig met beperkte laagdikte uit in de verzamelbak, -schaal. Verdeel de cirkel via twee diagonalen in 4 kwarten.

Verwijder twee tegenoverliggende kwarten (ze horen niet tot het laboratoriummonster). Voeg de overblijvende kwarten samen en homogeniseer opnieuw. Herhaal zonodig de handeling tot een monster van de juiste grootte (zie punt 2.2) wordt verkregen.

Het homogeniseren en/of reduceren en vullen van de monsterrecipiënten mag desgewenst ook met de handen worden uitgevoerd. Draag in dat geval steeds 2 paar handschoenen over elkaar om contact met de huid te vermijden.

De richtlijnen i.v.m. monstergrootte zoals gegeven in punt 2.2 gelden tevens voor de verpakking van het materiaal. Het (de) laboratoriummonster(s) wordt verpakt in een stevige plastic monsterzak of goed afsluitbare monsterrecipiënten (glazen breedhalsfles of emmer met deksel). Ten aanzien van de analyses wordt een laboratoriummonster van minimaal 1 liter gevraagd.

- a. Korrelgrootte < 10 mm : laboratoriummonster van minimaal 0.2 liter bij 5 mengmonsters, minimaal 1 liter bij 1 mengmonster
- b. Korrelgrootte 10-40 mm : laboratoriummonster van minimaal 0.6 liter bij 5 mengmonsters, minimaal 3 liter bij 1 mengmonster
- c. Korrelgrootte >40 mm : laboratoriummonster van minimaal 1 liter bij 5 mengmonsters, minimaal 5 liter bij 1 mengmonster

Als bacteriologische parameters moeten worden bepaald, moet het verpakkingsmateriaal rein en steriel zijn. D.w.z. steriel aangekocht of gesteriliseerd door natte of droge sterilisatie of met ethanol gereinigd.

Als de omstandigheden en/of voorzieningen niet toelaten het samenstellen en homogeniseren op een verantwoorde wijze uit te voeren, worden de grepen afzonderlijk verpakt en met de nodige richtlijnen voor het samenstellen van het mengmonster aan het laboratorium bezorgd.

5 IDENTIFICATIE VAN DE MONSTERS

De nummering van de monsters moet eenduidig zijn zodat achteraf geen misverstanden kunnen ontstaan m.b.t. de herkomst van de monsters.

De volgende informatie moet minimaal op de recipiënten of op een begeleidend formulier aanwezig zijn :

- a. opdrachtgever
- b. type mest(product) (compost, digestaat, gedroogde dikke fractie,)
- c. mestsoort waarvan het verwerkte product afkomstig is, indien mogelijk (bijvoorbeeld gedroogde dikke fractie – varkensmest)
- d. monsternemer
- e. plaats en datum van monsternamen
- f. uit te voeren analyses
- g. opmerking indien niet conform compendium wordt bemonsterd

Het monsterbeheersysteem van het laboratorium moet toelaten om achteraf iedere informatie met betrekking tot een individueel monster éénduidig te traceren

6 MONSTERCONSERVERING EN TRANSPORT

De monsters worden koel getransporteerd (koelbox) en voor analyse gestockeerd bij maximum 4°C gedurende maximum 24 h, maar niet lager dan 1°C.

BAM/DEEL 7/02 – VERWERKTE MEST – MONSTERVOORBEHANDELING

1 PRINCIPE

Van de te analyseren verwerkte mest wordt een initiële suspensie in gebufferd peptoon water (zie BAM/deel 7/05 punt 3.1, BAM/deel 7/06 punt 3.1) gemaakt om een zo uniform mogelijke verdeling van micro-organismen vanuit het monster te verkrijgen.

Voor de *Salmonella* analyse dient die stap als vooraanrijking.

Voor de bepaling van *Escherichia coli*, *Enterococcaceae* en *Clostridium perfringens* moet telkens het volledige volume van die initiële suspensie, dat representatief is voor 1 gram monster, worden getest.

Van een suspensie van monsters van de gistingsresiduen of de compost, die tijdens of onmiddellijk na de verwerking in het biogas- of compostproductiebedrijf worden genomen om het proces te bewaken moet naast de initiële suspensie één decimale verdunning worden uitgevoerd. Wanneer te hoge aantallen kve per plaat worden bereikt met de eerste decimale verdunning van de suspensie voldoet een monster niet aan de eisen beschreven onder BAM/deel07/00.

Van een suspensie van monsters die genomen werden voor het in de handel brengen van verwerkte mest en verwerkte producten uit mest moeten geen decimale verdunningen worden uitgevoerd. Als te hoge aantallen kve per plaat worden bereikt met de initiële suspensie voldoet een monster niet aan de eisen beschreven onder BAM/deel07/00.

2 MONSTERCONSERVERING

De monsters worden koel getransporteerd (koelbox) en voor analyse gestockeerd bij maximum 4°C gedurende maximum 24 h, maar niet lager dan 1°C.

BAM/DEEL 7/03 – VERWERKTE MEST – DETECTIE VAN *ESCHERICHIA COLI*

1 PRINCIPE

Detectie van *Escherichia coli* gebeurt volgens ISO 16649-2 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* — Part 2 : Colony-count technique at 44 °C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide

Het aantal *Escherichia coli* wordt uitgedrukt als aantal kve in 1 g monster.
Als *Escherichia coli* afwezig zijn, wordt <1 kve/g monster gerapporteerd.
In het rapport wordt eveneens de gebruikte methode vermeld of wordt ernaar verwezen.

2 REFERENTIE

ISO 16649-2 :2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* -- Part 2 : Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide

BAM/DEEL 7/04 – VERWERKTE MEST – DETECTIE VAN *ENTEROCOCCACEAE*

1 PRINCIPE

Voor de detectie van *Enterococcaceae* wordt enkel de genus *Enterococci* bepaald in een vaste matrix, waarbij verwezen wordt naar de media die beschreven staan in de ISO 7899-2 voor water analyses :Water quality-Detection and enumeration of intestinal enterococci part 2 : Membrane filtration method, of naar het aanwenden van *Enterococcus* chromogene media als alternatief.

De analysemethode op een vaste matrix verloopt volgens ISO 6887-2

Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination Part 2 Specific Rules for the preparation of meat and meat products.

Het aantal *Enterococcaceae* wordt uitgedrukt als aantal kve in 1 g monster.

Als *Enterococcaceae* afwezig zijn, wordt <1 kve/g monster gerapporteerd.

In het rapport wordt eveneens de gebruikte methode vermeld of wordt ernaar verwezen.

2 REFERENTIES

- a. ISO 7899-2 :2000 Water quality -- Detection and enumeration of intestinal *enterococci* -- Part 2 : Membrane filtration method
- b. ISO 6887-2 :2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination -- Part 2 : Specific rules for the preparation of meat and meat products

BAM/DEEL 7/05 – VERWERKTE MEST – DETECTIE VAN *SALMONELLA*

1 WERKWIJZE

De detectie van *Salmonella* omvat de opeenvolgende stadia :

- preaanrijking in een niet selectief vloeibaar medium
- aanrijking van *Salmonella* in twee selectieve media na de pre-aanrijking
- uitplating en identificatie
- biochemische en serologische bevestigingstesten

2 MEDIA EN MATERIAAL

- Gebufferd peptoon water BPW
- Rappaport-Vassiliadis medium met soya RVS
- Muller-Kauffmann tetrathionaat novobiocine bouillon MKTTn
- Xylose lysine deoxycholaat agar XLD (in extra grote schalen 140mm)
- Tweede agar medium naar keuze en oordeel van het laboratorium (Rambach; Briljant groen (fenol rood lactose sucrose) BGA/BPLS agar; Bismut sulfiet agar; *Salmonella* chromogenic agar of gelijkwaardig medium). Om zo volledig mogelijk alle stammen van het geslacht *Salmonella* te kunnen selecteren moeten minstens twee selectieve '*Salmonella*-media' gebruikt worden. XLD is vastgelegd in de norm en een tweede medium moet gekozen worden in functie van de mogelijke groei uit het spectrum van *Salmonella*. Een combinatie van de media kan bepaald worden uit de specificaties in de handleidingen van de media bij de verschillende merken.
- Nutriënt agar
- Triple sugar/iron agar TSI
- Urea agar Christensen
- L-lysine decarboxylation medium
- Reagens voor detectie van β -galactosidase
- Reagens voor Voges-Proskauer reactie
- Reagens voor indol reactie
- Fysiologische zoutoplossing (0,85 % NaCl)
- Monovalent of polyvalent anti H,O,Vi sera voor *Salmonella* of *Salmonella* Latex Agglutinatie Test of gelijkwaardige test
- Autoclaaf; incubatoren van $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ en $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, waterbad op $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, geschikt glaswerk, pipetten, pH-meter, petrischalen, entnaald
- Stomacher toestel of gelijkwaardige homogenisator

3 PROCEDURE

3.1 Initieel suspenderen van monster en pre-aanrijking in een niet selectief vloeibaar medium (gebufferd peptoon water)

Aan 25 g homogeen afgewogen monster in een stomacherzak 225 ml gebufferd peptoon water aseptisch toevoegen (1/10 massa/volume verhouding)

Als de monsters fragmenten bevatten die de stomacherzak kunnen beschadigen, wordt het geheel gehuld in een extra (stomacher-) zak, vóór het homogenisatieproces

- a. homogenisatie in de homogenisator gedurende 2 minuten
- b. de zak wordt afgesloten met een clips of tape
- c. de stomacherzak wordt geïncubeerd bij 37°C gedurende 18 uur ± 2 uur.

3.2 Aanrijking van *Salmonella* in twee selectieve media

Uit de stomacherzak wordt van de gebufferd peptoon suspensie :

- a. 0,1 ml in 10 ml RVS bouillon getransfereerd : incubatie bij 41,5°C ± 1°C (aandacht om 42,5°C zeker niet te overschrijden) gedurende 24 uur ± 3 h
- b. 1 ml in 10 ml MKTTn bouillon getransfereerd : incubatie bij 37°C gedurende 24 uur ± 3 h.

3.3 Uitplating en identificatie

Indien voorhanden worden extra grote schalen geënt. Zoniet worden twee gewone schalen achtereenvolgens geënt door gebruik te maken van eenzelfde entnaald. Tussen het enten van de eerste en de tweede schaal wordt de entnaald niet geflambeerd.

Na incubatie van 24 uur ± 3 uur :

- a. met een platinumnaald wordt vanuit de vloeibare cultuur van zowel RVS als MKTTn bouillons telkens één extra grote schaal of twee gewone petrischalen van de selectieve media XLD en het bijkomend medium geënt.
- b. Incubatie van de XLD schalen (agarbodem aan de bovenzijde) bij 37°C gedurende 24 uur ± 3 uur. Het tweede medium wordt geïncubeerd volgens instructies van de leverancier. Na incubatie wordt de aanwezigheid van typische en mogelijke *Salmonella* kolonies gecontroleerd.
- c. op XLD :
 1. typische *Salmonella* kolonies hebben een zwart centrum en een licht transparante roodachtige kleur door kleurverandering van de indicator
 2. H₂S negatieve varianten van *Salmonella* vertonen een roze kleur en met een donkerroos centrum
 3. lactosepositieve *Salmonella* geven gele kolonies met of zonder zwarting
- d. op het tweede medium : controle van presumptieve *Salmonella* kolonies volgens de karakteristieken van het aangewend medium.

3.4 Biochemische en serologische bevestigingstesten

3.4.1 Selectie van kolonies voor de bevestigingstesten

- a. voor de bevestigingstesten worden uit beide selectieve media indien mogelijk een vijftal typische of verdachte kolonies opgepikt en uitgestreken op een nutriënt agar plaat, zodanig dat goed geïsoleerde kolonies worden verkregen
- b. incubatie van de schalen bij 37°C gedurende 24 uur ± 3 uur
- c. gebruik zuivere culturen voor de bevestigingstesten.

Eén isolaat wordt getest. Wanneer die negatief blijkt worden de vier andere isolaten onderworpen aan de bevestigingstesten.
Voor epidemiologische studies worden minstens vijf isolaten getest.

3.4.2 Biochemische bevestigingstesten

Op een te onderzoeken zuivere kolonie wordt een biochemische identificatie uitgevoerd met de media en testen :

Triple Sugar Iron agar TSI (glucose + zuur + gas positief, zwavelwaterstofvorming positief 92-97% *S. Paratyphi* 10%, lactose negatief 99 % *S. Paratyphi* positief en sucrose negatief 99%)

Ureum hydrolyse (99% negatief)

Lysine-decarboxylatie (95 % positief; *S. Paratyphi* negatief; *S. Typhi* 98% positief)

β -Galactosidase reactie (negatief 98 %)

Voges-Proskauer VP reactie (negatief)

Indolproductie (99% negatief)

Deze testen kunnen eveneens uitgevoerd worden met een commerciële biochemische kit, en indien nodig met de hierboven vernoemde testen aangevuld worden.

De interpretatie van de resultaten van een identificatiekit gebeurt volgens de daarbij horende handleiding.

Als *Salmonella* stammen worden geïdentificeerd wordt een serologische confirmatie uitgevoerd.

3.4.3 Serologische bevestigingstest

Elimineren van autoagglutinerende stammen :

Breng op een onderlaag een druppel zoutoplossing en los daarin aan de hand van een entnaald een deej van een verdachte kolonie. Door ronddraaiende beweging gedurende 30-60 s wordt de autoagglutinatie nagegaan. Als die positief is wordt er verder geen serologische test gedaan.

Op elke (niet auto-agglutinerende) zuivere kolonie wordt de agglutinatietest uitgevoerd voor de detectie van de aanwezigheid van *Salmonella* O-, en/of Vi- en/of H-antigenen. De test wordt uitgevoerd volgens de richtlijnen van de producent. De agglutinatie wordt vergeleken met een positieve en negatieve controle.

Als agglutinatie optreedt, wordt de reactie positief gerapporteerd.

3.4.4 Species identificatie

Als de noodzaak er is voor species identificatie, wordt een isolaat daarvoor geënt in transport agar slant. De tubes worden verstuurd naar het een erkend instituut waar de definitieve typering kan gebeuren.

4 WEERGAVE VAN DE RESULTATEN

In functie van de resultaten en interpretatie wordt de aan - of afwezigheid van *Salmonella* uitgedrukt in 25 g monster.

In het rapport wordt eveneens de gebruikte methode vermeld of wordt ernaar verwezen.

5 KWALITEITSCONTROLE

Inzetten van een blanco controle bij de selectieve media bij elke meetreeks.

Inzetten van een positieve controle per lot analysemedia.

Validatie van de analysemethode op verschillende matrices (natte en ingedroogde mest) : herhaalbaarheid testen. Hiervoor wordt een controlemonster beënt met een referentie-*Salmonella*-stam en behandeld als elk ander onbekend monster.

6 REFERENTIE

ISO 6579 :2002 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.

BAM/DEEL 7/06 – VERWERKTE MEST – DETECTIE VAN *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

1 WERKWIJZE

Detectie van *Clostridium perfringens* gebeurt door :

- a. isolatie en telling van karakteristieke kolonies door analyse van de initiële suspensie met het selectief medium SC agar via de gietplaatmethode
- b. bevestigen van karakteristieke kolonies
- c. berekenen van het aantal *Clostridium perfringens* per gram monster aan de hand van het aantal bevestigde kolonies.

2 MEDIA EN MATERIAAL

- a. Gebufferd pepton water BPW
- b. (T)SC agar
- c. Voor de bevestigingstest :
 1. Fluid Thioglycolaat Medium TGM
 2. Lactose sulfiet medium LS (met Durham buisje)
of een commerciële biochemische kit
- d. Autoclaaf; incubator van $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, waterbad op $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, waterbad op $46^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ geschikt glaswerk, pipetten, pH-meter, petrischalen, entnaald, anaërobe jar en reagentia
- e. Stomacher toestel of gelijkwaardige homogenisator

3 PROCEDURE

3.1 Initieel suspenderen van een monster in gebufferd pepton water

- a. aan 10 g homogeen afgewogen monster in een stomacherzak 90 ml gebufferd pepton water aseptisch toevoegen (1/10 massa/volume verhouding)
- b. Als het monster fragmenten bevat die de stomacherzak kunnen beschadigen, wordt het geheel gehuld in een extra (stomacher-) zak, vóór het homogenisatieproces.
- c. homogenisatie in de homogenisator gedurende 2 minuten
- d. uit de stomacherzak wordt van de gebufferd pepton suspensie in tienvoud 1 ml¹⁰ van het te analyseren monsterextract overgebracht in tien lege en steriele petrischalen (10 ml suspensie is representatief voor 1 gram monster). De tijd tussen inoculatie van de petrischalen en het gieten van SC moet zo kort mogelijk worden gehouden en mag de 15 minuten niet overschrijden
- e. petrischalen vullen met $\pm 15\text{ml}$ vloeibaar SC agar medium bewaard bij $44 - 47^{\circ}\text{C}$ in een waterbad

¹⁰ Vijf maal 2ml gebufferd pepton suspensie analyseren is eveneens uitvoerbaar. Het grote nadeel bij het analyseren van 2ml porties van een natte mestmatrix is dat de donkere suspensie de transparantie van de agarlaag heel sterk beperkt, zodat telling van presumptieve kolonies kan gehinderd worden.

- f. entmateriaal en medium mengen door draaiende bewegingen met de schalen
- g. agar laten stollen en nadien overgieten met een tweede laag vloeibaar medium (± 10 ml)
- h. agar laten stollen en drogen in laminaire flow en geïnverteerd anaëroob incuberen bij 37°C gedurende 20 uur $\pm$ 2 uur

3.2 Telling en selectie van kolonies voor bevestiging

- a. van alle schalen worden de zwarte presumptieve *Clostridium perfringens* geteld
- b. selecteer vijf karakteristieke kolonies uit de tien schalen voor biochemische bevestiging.

3.3 Biochemische bevestigingstest

Voor de identificatie kan een commerciële biochemische kit worden gebruikt. De interpretatie van de resultaten van een identificatiekit gebeurt volgens de daarbij horende handleiding. Zoniet wordt de volgende methode gebruikt.

3.4 Inoculatie en incubatie

- a. inoculeer elk van de geselecteerde kolonies met een entnaald in vloeibaar TGM
- b. anaërobe incubatie bij 37°C gedurende 18 uur - 24 uur
- c. pipetteer na incubatie 5 druppels TGM cultuur in LS medium
- d. incubatie in een waterbad van 46°C gedurende 18 uur - 24 uur

3.5 Interpretatie

- a. onderzoek elke tube LS medium op gasproductie en een op zwarte verkleuring van het medium door ijzersulfiet precipitatie. Tubes met Durham buisjes die meer dan $\frac{1}{4}$ met gas gevuld zijn en waarin een zwart precipitaat voorkomt, worden als positief beschouwd.
 - b. bij twijfel, als in een zwarte LS tube een Durham buisje met minder dan $\frac{1}{4}$ gevuld is, pipetteer onmiddellijk 5 druppels LS cultuur in een nieuwe LS tube.
 - c. incubatie in een waterbad van 46°C gedurende 18 uur - 24 uur
 - d. onderzoek die tube(s) zoals hierboven vermeld.
- Bacteriën die zwarte kolonies geeft op SC medium en die een positieve bevestiging geven in LS medium worden als *Clostridium perfringens* beschouwd. In elk andere geval is het resultaat negatief.

3.6 Berekening van het resultaat (zie ISO 7218 : Amd. 1)

Sommeer de aantallen presumptieve kolonies van de tien petrischalen (= **C**).

Bereken het aantal *Clostridium perfringens* **a** in 1 gram monster :

$$a = b/A \times C$$

met **b** het aantal geconfirmeerde kolonies en **A** het aantal geïnoculeerde kolonies ter bevestiging (=5)

4 WEERGAVE VAN DE RESULTATEN

Het aantal *Clostridium perfringens* wordt uitgedrukt als aantal kve in 1 g monster. Indien per plaat meer dan 150 zijn bepaald wordt het aantal gerapporteerd als > 1500 kve/g monster.

Indien afwezig zijn wordt <1 kve/g monster gerapporteerd.

In het rapport wordt eveneens de gebruikte methode vermeld of wordt ernaar verwezen.

5 KWALITEITSCONTROLE

Inzetten van een blanco controle bij de selectieve media bij elke meetreeks.

Inzetten van een positieve controle per lot analysemedia.

Validatie van de analysemethode op verschillende matrices (natte en ingedroogde mest) : herhaalbaarheid testen. Hiervoor wordt een controlemonster beënt met een referentie-*Clostridium perfringens*-stam en behandeld als elk ander onbekend monster.

De juistheid afleiden uit ringtestresultaten.

6 REFERENTIES

- a. ISO 7218 :1996 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- General rules for microbiological examinations
- b. ISO 7218 :2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- General rules for microbiological examinations Amendment 1
- c. ISO 7937 :2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* -- Colony-count technique

BAM/DEEL 7/20 – VERWERKTE MEST – RAPPORTERING

De volgende gegevens moeten vermeld worden op het analyserapport :

1 ALGEMEEN

- a. Briefpapier van het laboratorium met minimaal vermelding van naam, adres, telefoon, fax, e-mail
- b. Uniek rapportnummer
- c. Uniek nummer monster en nummer monster toegekend door de mestbank (indien van toepassing)
- d. Datum van de analyse
- e. Datum verzending rapport
- f. Naam en handtekening van de verantwoordelijke laboratorium (mag eventueel digitaal)
- g. Naam en adres van degene aan wie het rapport bezorgd wordt
- h. Gebruikte methode of verwijzing naar gebruikte methode

2 BETREFFENDE DE MONSTERNAME

- a. Naam van de monsternemer. Indien het laboratorium specifieke identificatienummers hanteren voor hun monsternemers, worden die eveneens op het verslag vermeld.
- b. Indien het monster niet genomen werd door een monsternemer verbonden aan het laboratorium, moet dat uitdrukkelijk vermeld worden op het analyserapport.
- c. Datum van de monstername
- d. Opdrachtgever aanwezig bij de monstername (J/N)

3 ALGEMENE INLICHTINGEN BETREFFENDE DE AARD VAN HET MONSTER

- a. Het type verwerkte mest moet minstens vermeld worden (bijvoorbeeld compost, digestaat, gedroogde dikke fractie, ...).
- b. Indien mogelijk wordt tevens de mestsoort waarvan het verwerkte product afkomstig is vermeld (bijvoorbeeld gedroogde dikke fractie – varkensmest)
- c. Indien opgegeven door de opdrachtgever, wordt ook de mestcode vermeld (bijvoorbeeld 172 - champost).

4 EENHEDEN

Het aantal *Escherichia coli* wordt uitgedrukt in aantal kve/g monster.

Het aantal *Enterococcaceae* wordt uitgedrukt in aantal kve/g monster.

Salmonella wordt aangegeven als aanwezig of afwezig in 25 g monster.

Voor *Escherichia coli*, *Enterococcaceae* en *Salmonella* worden op het verslag telkens de resultaten van de 5 afzonderlijk geteste monsters vermeld.

Het aantal *Clostridium perfringens* wordt uitgedrukt in aantal kve/g monster.

Gezien om gevoegd te worden bij het besluit van de Vlaamse Regering van 14 januari 2011 betreffende de erkenning van laboratoria in het kader van het Mestdecreet.

Brussel, 14 januari 2011.

De minister-president van de Vlaamse Regering,

K. PEETERS

De Vlaamse minister van Leefmilieu, Natuur en Cultuur,

J. SCHAUVLIEGE