

CODEN: IBBRAH (1-83) 1-21 (1983)

INSTITUUT VOOR BODEMVRUCHTBAARHEID

RAPPORT 1-83

METHODE VOOR HET GELIJKTijdig BEPALEN VAN DE CO<sub>2</sub>-CONCENTRATIE EN DE  
RADIOACTIVITEIT VAN DIT MET <sup>14</sup>C gemerkte CO<sub>2</sub>

*With a summary: Method for simultaneous determination of the  
CO<sub>2</sub> concentration and the radioactivity of this <sup>14</sup>C labelled CO<sub>2</sub>*

door

J.W. DALENBERG

1983

Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, Oosterweg 92, Postbus 30003,  
9750 RA Haren (Gr.)

---

*Inst. Bodemvruchtbaarheid, Rapp. 1-83 (1983) 21 pp.*

## INHOUD

1. Inleiding	3
2. Meting van de activiteit van [ $^{14}\text{C}$ ]CO <sub>2</sub>	4
2.1. Absorptiemiddel	5
2.2. Vloeistofscintillatiemeting	6
3. Meting CO <sub>2</sub> -totaal	9
3.1. Absorptie in Ba(OH) <sub>2</sub> gevolgd door weging	9
3.2. Hoogfrequent-oscillator	9
3.3. Luft detector	10
3.4. Infrarood-spectrofotometer	10
4. Praktische uitvoering	12
4.1. Apparatuur	12
4.2. IJking van de Miran II	15
5. Toepassing	17
6. Samenvatting	19
7. Summary	20
8. Literatuur	21

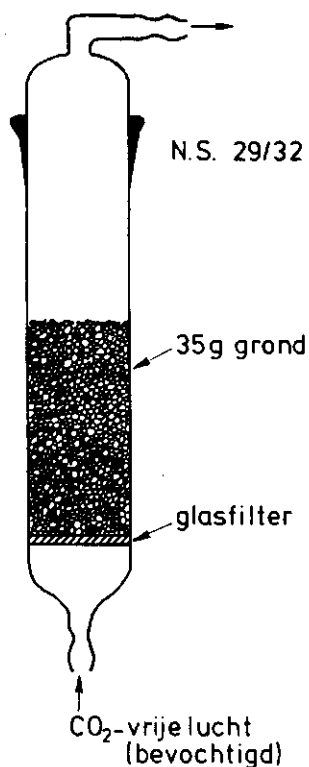
## 1. INLEIDING

In dit rapport wordt een methode beschreven voor het nauwkeurig bepalen van de koolzuurconcentratie en de radioactiviteit van met  $^{14}\text{C}$  gemerkt  $\text{CO}_2$ . Bij veel levensprocessen komt  $\text{CO}_2$  vrij of wordt  $\text{CO}_2$  verbruikt. De verteringsprocessen van micro-organismen in grond veroorzaken onder de juiste omstandigheden van temperatuur en vochtgehalte een constante  $\text{CO}_2$ -ontwikkeling. De hier beschreven bepalingsmethode is ontwikkeld ten behoeve van een onderzoek naar de invloed van organische bemesting op de afbraak van humus in grond. Die invloed komt tot uitdrukking in een verhoogde of verlaagde  $\text{CO}_2$ -produktie, afkomstig van de afbraak van de humus onder invloed van de vertering van organische bemesting (Jenkins, 1963).

Om onderscheid te kunnen maken tussen het  $\text{CO}_2$  afkomstig van de humusafbraak en dat afkomstig van de vertering van de organische bemesting is gebruik gemaakt van grond, waarvan de humus gemerkt is met  $^{14}\text{C}$ . De radioactieve humus is verkregen door met  $^{14}\text{C}$  gemerkte plantenresten te laten humificeren in de minerale fractie van zavelgrond. De experimenten worden uitgevoerd met 35 g van de gemerkte grond in een glazen vat (figuur 1) waardoor een  $\text{CO}_2$ -vrije luchtstroom wordt geleid bij  $29^\circ\text{C}$ . Per uur geeft de mineraliserende grond, waaraan nog geen organische bemesting is toegevoegd, circa 90  $\mu\text{g}$  gemerkt  $\text{CO}_2$  af. Dit veroorzaakt in de doorgeleide lucht een  $\text{CO}_2$ -concentratie van 25 ppm. De activiteit hiervan bedraagt ongeveer 8 Bq. Na het toedienen van de bemesting in de vorm van b.v. 50 mg glucose kan de  $\text{CO}_2$ -concentratie gedurende 1 à 2 dagen tot 600 ppm oplopen. Verhoging of verlaging van de activiteit gedurende die periode geeft dan de invloed aan van de organische bemesting op de humusafbraak. De gevoeligheid en de nauwkeurigheid van de te ontwikkelen methode moeten voldoende zijn om de voorkomende  $\text{CO}_2$ -concentraties (25 - 600 ppm) en de activiteit betrouwbaar te kunnen meten. Omdat de experimenten meerdere weken duren, moeten de metingen continu en automatisch kunnen worden uitgevoerd. Uitgaande van deze eisen worden de mogelijkheden behandeld die voor de bepaling van de activiteit en de koolzuurconcentratie van  $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$  in aanmerking komen.

## 2. METINGEN VAN DE ACTIVITEIT VAN $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$

Het  $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$  dat bij de bovengenoemde experimenten wordt ontwikkeld, komt continu vrij. Het is echter niet mogelijk de activiteit ervan ook continu te meten, omdat die daarvoor te gering is. Voor continu-metingen van radioactiviteit zou een ionisatiekamer of een antraceen-doorstroomcel in aanmerking kunnen komen. In b.v. een antraceen-doorstroomcel van 1 ml en een efficiency van 50% voor  $^{14}\text{C}$  veroorzaakt 8 Bq een telsnelheid van 0,1 cpm. Dit is te gering om nauwkeurig te kunnen meten. Het alternatief is batchgewijze absorptie in een geschikt absorptiemiddel, gevolgd door telling van de activiteit. De hoeveelheid activiteit die b.v. in drie uur te verzamelen is, bedraagt ongeveer 24 Bq. Bij een efficiency voor  $^{14}\text{C}$  van b.v. 50% is dit gelijk aan ongeveer 700 cpm. Dit is voldoende om de activiteit nauwkeurig te bepalen. De hoeveelheid radioactieve neerslag die in een absorptiemiddel zoals  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  ontstaat gedurende drie uur



Figuur 1. Glazen vat met 35 g mineraliserende grond.

*Figure 1. Glass container with 35 g mineralizing soil.*

tijdens de in de inleiding bedoelde experimenten is zeer gering (400 µg), zodat nauwkeurig af-filtreren en tellen d.m.v. een gasionisatie-telbuis niet mogelijk is. Het tellen van het gevormde neerslag in een vloeistofscintillatieteller kan in principe wel en zou een goede methode zijn, maar omdat de absorptie geheel automatisch moet verlopen zal de vorming van neerslag in doorstroombuisjes e.d. problemen opleveren.

Absorptie in een medium waarin geen neerslag ontstaat en waarvan een monster als geheel in een vloeistofscintillatieteller gemeten kan worden is hier de aangewezen weg.

### 2.1. Absorptiemiddel

Aan het absorptiemiddel worden de volgende eisen gesteld:

- \* het aangeboden [ $^{14}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> moet voor 100% geabsorbeerd worden,
- \* het geabsorbeerde [ $^{14}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> mag niet meer afgegeven worden,
- \* er mag geen neerslag ontstaan in het absorptiemiddel (verstopping en memory effect),
- \* het absorptiemiddel moet goed mengbaar zijn met een scintillator-mengsel, waarin beta-energie wordt omgezet in licht-quanten die met een fotomultiplicatorbuis worden geteld,
- \* er mag geen nalichteffect optreden.

De eventueel in aanmerking komende anorganische basen zoals Ba(OH)<sub>2</sub> en Ca(OH)<sub>2</sub> vallen af, omdat er een neerslag ontstaat, waardoor er verstopping van het buisje waarmee het gas wordt ingeleid optreedt. Van de organische basen valt phenethylamine om dezelfde reden af, terwijl hyamine hydroxide niet in aanmerking komt vanwege de hoge prijs. Ethanolamine is een uitstekend absorptiemiddel voor [ $^{14}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> zoals blijkt uit de volgende absorptie-experimenten. Door twee achter elkaar geschakelde absorptie-vaatjes met in elk 10 ml van het amine werd zoveel [ $^{14}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> geleid dat 0,2% van het amine in het eerste vaatje was omgezet in het ethanolamine-carbonaat. Het [ $^{14}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> bleek kwantitatief geabsorbeerd te zijn in het eerste vaatje. In het tweede vaatje werd geen activiteit aangetoond. Dit absorptie-experiment werd ook uitgevoerd met een hoeveelheid [ $^{14}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub>, welke een omzetting van het amine van 20% veroorzaakte. Ook nu bleek het [ $^{14}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> geheel in het eerste vaatje geabsorbeerd te worden. Het [ $^{14}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> voor deze experimenten werd verkregen door Na<sub>2</sub><sup>14</sup>CO<sub>3</sub> te laten reageren met

een oplossing van barnsteenzuur. Uit verdere experimenten bleek dat de  $^{14}\text{C}$ -activiteit van ethanolamine dat met  $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$  is verzadigd niet vermindert wanneer er inactief  $\text{CO}_2$ -gas wordt doorgeleid.

Een scintillatormengsel met dioxaan als oplosmiddel is niet geschikt om de radioactiviteit te tellen van ethanolamine waarin  $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$  geabsorbeerd is, omdat er een langzaam afnemend nalichteffect optreedt. Bovendien ontstaat er ontmenging wanneer het ethanolamine voor meer dan 10% is omgezet, omdat het ethanolaminecarbonaat niet goed oplosbaar is in een dioxaan-scintillatormengsel. In een scintillatormengsel met toluen als oplosmiddel treedt echter geen nalichteffect op, terwijl geringe ontmenging, die ook hier optreedt, kan worden opgeheven door toevoeging van methanol.

Ethanolamine is dus geschikt voor absorberen van  $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$  omdat het  $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$  voor 100% absorbeert, er geen uitwisseling optreedt van eenmaal geabsorbeerd  $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$  en het geteld kan worden in een toluen-methanol scintillatormengsel met 2% 2,5-diphenylaxazol (P.P.O).

## 2.2. Vloeistofscintillatiemeting

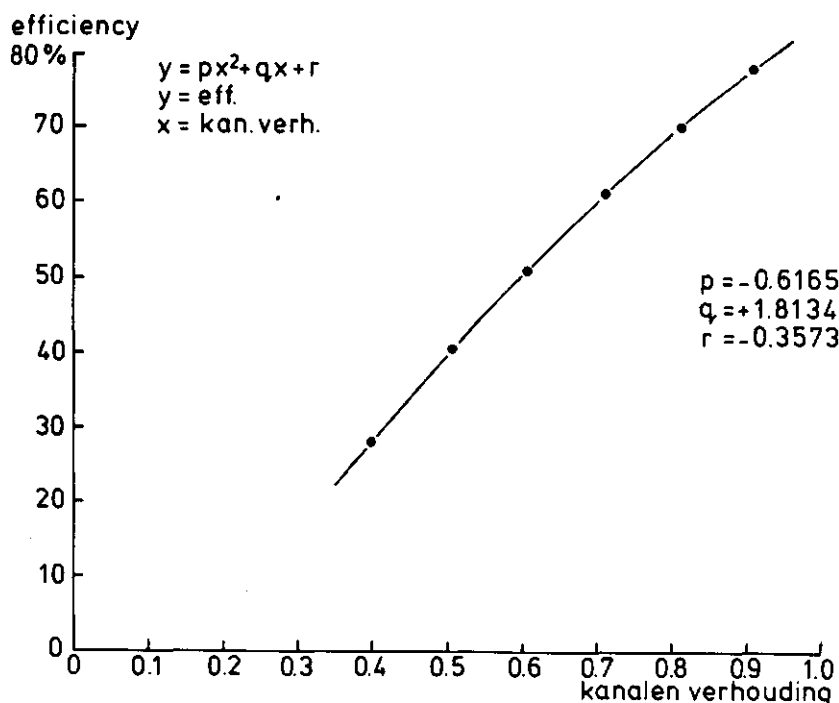
De activiteit wordt gemeten met de vloeistofscintillatietechniek in een Philips Liquid Scintillation Analyzer (Parmentier en Ten Haaf, 1969). Het telmonster is uit twee componenten samengesteld, ten eerste 5,5 ml absorptievloeistof bestaande uit 4,5 ml methanol en 1 ml ethanolamine (monster) dat gedeeltelijk is omgezet in het carbonaat, en ten tweede 4,5 ml scintillatormengsel bestaande uit 4,5 ml toluen met 2% P.P.O. Na de absorptie wordt het scintillatormengsel aan de absorptievloeistof toegevoegd (Bosshart en Young, 1972). Omdat de absorptievloeistof na de absorptie nog gedurende langere tijd in een fractieverzamelaar verblijft, is de samenstelling als gevolg van verdamping van methanol en omzetting van het ethanolamine door  $\text{CO}_2$  uit de omgevingslucht niet geheel constant. Om de  $\text{CO}_2$ -absorptie uit de omgevingslucht tegen te gaan wordt de fractieverzamelaar gespoeld met  $\text{CO}_2$ -vrije lucht; ook is er een voorziening aangebracht om de verdamping van methanol tegen te gaan. De absorptiemonsters worden in de fractieverzamelaar d.m.v. stuiters afgesloten. Deze voorzieningen zijn echter niet geheel afdoende. Omdat methanol een storende invloed (doving) op de vloeistofscintillatietelling heeft, is

de telefficiency als gevolg van een variabel methanolgehalte niet constant. Om de activiteit in desintegraties per tijdseenheid te bepalen wordt er gebruik gemaakt van de kanalenverhoudingsmethode (Bransome, 1970). De doving van het telmonster door methanol veroorzaakt een verandering van de vorm van het pulsgroottespectrum van de  $^{14}\text{C}$ -meting in de scintillatieteller. Dit spectrum wordt in twee verschillend ingestelde kanalen (vensters) gemeten. De verhouding van de telsnelheid in deze vensters is afhankelijk van de vorm van het spectrum en dus ook van de efficiency van de  $^{14}\text{C}$ -meting.

Er wordt een ijking uitgevoerd door een serie monsters met verschillende doving en bekende radioactiviteit te meten. Met de meetresultaten wordt een dovingcurve geconstrueerd (figuur 2). De algebraïsche vorm van deze curve wordt weergegeven door

$$Y = pX^2 + qX + r$$

Hierin is Y de efficiency van de telling en X de kanalenverhouding. De parameters p, q, en r worden berekend en in het rekengedeelte van de



Figuur 2. Dovingcurve.

Figure 2. Quenching curve.

vloeistofscintillatieteller ingevoerd. Wanneer de monsters nu met de kanalenverhoudingsmethode geteld worden, wordt het aantal desintegraties per minuut door het telapparaat automatisch uitgerekend.

De background (15 cpm) van de meetapparatuur is bepalend voor de gevoeligheid van de meetmethode. Een telsnelheid van 45 cpm is al zeer goed boven de background te meten. Bij de hier gebruikte  $^{14}\text{C}$ -gemarkeerde grond is dat ruim voldoende, omdat 35 g van deze mineraliserende grond gedurende een uur al een activiteit produceert, waarvan de telsnelheid 340 cpm bedraagt. De nauwkeurigheid hangt af van het totale aantal counts en is de vierkantswortel daaruit. Hoe langer er geteld wordt, hoe nauwkeuriger de waarneming wordt. Er worden absorptiemonsters over een periode van 3 uur verzameld en deze monsters worden 40 minuten geteld. De nauwkeurigheid bedraagt dan 0,5%.



### 3. METING CO<sub>2</sub>-TOTAAL

Voor het bepalen van totaal-CO<sub>2</sub> komen vier methoden in aanmerking.

#### 3.1. *Absorptie in Ba(OH)<sub>2</sub> gevolgd door weging*

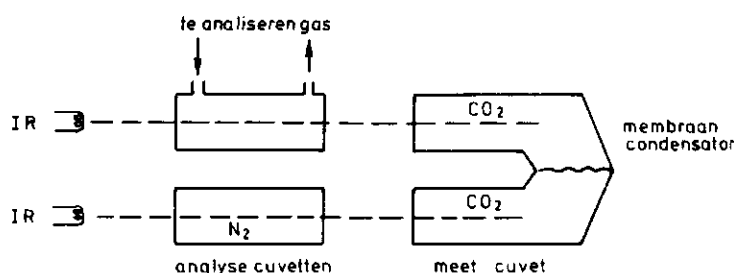
Het CO<sub>2</sub>-gas wordt door een barietoplossing geleid en het ontstane neerslag van BaCO<sub>3</sub> wordt gefiltreerd. De hoeveelheid gevormd BaCO<sub>3</sub> is echter te gering (400 µg per uur) om met voldoende nauwkeurigheid te worden gefiltreerd en gewogen. Evenmin als voor de activiteitsbepaling voldoet deze methode voor de bepaling van CO<sub>2</sub>-totaal.

#### 3.2. *Hoogfrequent-oscillator*

Bij deze methode wordt eveneens gebruik gemaakt van het absorberen van CO<sub>2</sub> in een barietoplossing. De afname van de Ba<sup>++</sup>-concentratie is een maat voor de hoeveelheid geabsorbeerde CO<sub>2</sub> en wordt op een µA-meter afgelezen. Om het absorptievat bevinden zich twee koperen ringen, die opgenomen zijn in een hoogfrequent oscillatorkring (Bruins, 1963). De koperen ringen vormen een condensator met de Ba(OH)<sub>2</sub>-oplossing als diëlectricum. De variaties in de ionenconcentratie in de Ba(OH)<sub>2</sub>-oplossing veroorzaken veranderingen in de oscillatorkring, die op een µA-meter worden afgelezen. De gevoeligheid van deze methode is afhankelijk van de barietconcentratie en is dus niet constant. Bij een hoge barietconcentratie treedt er slechts een geringe verandering in ionenconcentratie op wanneer er CO<sub>2</sub> wordt geabsorbeerd. Om dus gevoelig genoeg te kunnen meten moet er met een lage barietconcentratie gestart worden. De totale hoeveelheid CO<sub>2</sub> welke geabsorbeerd kan worden is afhankelijk van de totale hoeveelheid bariet in oplossing. Er kan dus maar een zeer beperkte hoeveelheid CO<sub>2</sub> gemeten worden. Dit beperkt het continu meten sterk. Omdat de CO<sub>2</sub> welke met deze methode gemeten wordt verloren gaat voor de radioactiviteitsmeting moet de gasstroom in tweeën gesplitst worden om zowel de totale hoeveelheid CO<sub>2</sub>, als de activiteit te kunnen meten. Bij oriënterende experimenten is gebleken dat deze methode zeer bewerkelijk is en onvoldoende nauwkeurig.

### 3.3. *Luft detector*

In de Luft detector (figuur 3) wordt een dubbele IR-lichtbundel geabsorbeerd in CO<sub>2</sub> in een meetcuvet welke is opgebouwd uit twee helften die door een membraancondensator zijn gescheiden (Luft *et al.*, 1967). Alvorens de meetcuvet te treffen passeren de IR-bundels twee analyse-cuvetten waarvan de een gevuld is met het te analyseren gas (in dit geval CO<sub>2</sub>) en

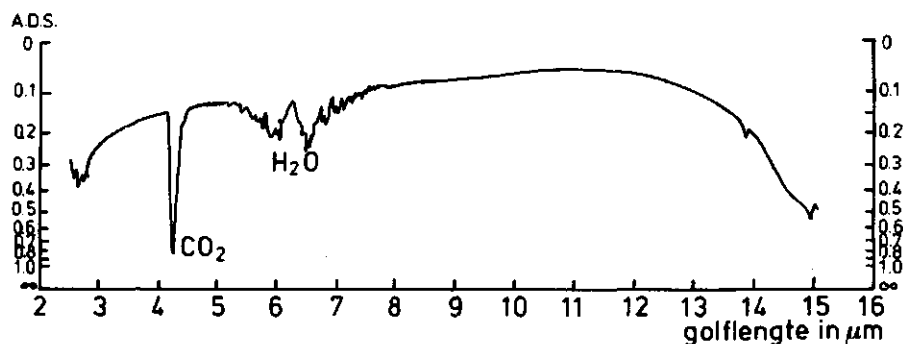


Figuur 3. Schematische weergave van de Luft detector.  
 Figure 3. Schematic presentation of the Luft detector.

de andere met een gas dat geen IR absorbeert (b.v. N<sub>2</sub>). Hierdoor ontstaat er een verschil in intensiteit tussen de IR-bundels welke in de meetcuvet geabsorbeerd worden. Er ontstaat een drukverschil tussen de beide meet-helften van de meetcuvet, dat door de membraancondensator wordt omgezet in een elektrisch signaal. Voor het instellen van meetbereiken moeten er meetcuvetten verwisseld worden met verschillende CO<sub>2</sub>-concentraties. De maximale gevoeligheid voor CO<sub>2</sub> is 20 ppm. Omdat de meting berust op het gebruik van het gehele absorptiespectrum van CO<sub>2</sub> heeft vocht, waarvan het absorptiegebied grenst aan dat voor CO<sub>2</sub>, een storende invloed op de meting (figuur 4). Door deze eigenschappen is de Luft detector ongeschikt voor het uitvoeren van de hier beoogde CO<sub>2</sub>-metingen.

### 3.4. *Infrarood-spectrofotometer*

Een andere toepassing van de IR-absorptie om CO<sub>2</sub> te detecteren is de IR-spectrofotometer van het fabrikaat Wilks (type Miran II). Een IR-



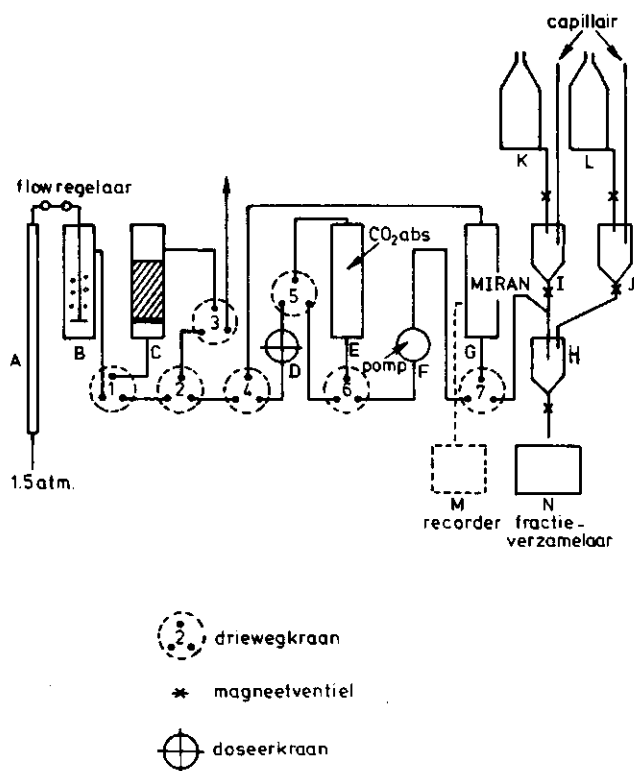
Figuur 4. Infraroodspectrum van CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O.  
 Figure 4. Infra-red spectrum of CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O.

bundel wordt via een monochromatisch AgBr-filter met een golflengte van 4,26 μm door een cuvet gestuurd, waardoor het te analyseren gas stroomt. Omdat het IR-licht tot monochromatisch licht gereduceerd is, vindt absorptie alleen plaats als gevolg van de aanwezigheid van CO<sub>2</sub> en niet van H<sub>2</sub>O, waarvan het spectrum naast dat voor CO<sub>2</sub> ligt. De in intensiteit gereduceerde IR-bundel treft een temperatuurgevoelige weerstand (thermistor) waardoor een signaal ontstaat, waarvan de grootte afhankelijk is van de CO<sub>2</sub>-concentratie in het te analyseren gas. Het meetbereik kan met een schakelaar worden ingesteld, voor CO<sub>2</sub> op minimaal 0,5 ppm en maximaal 10.000 ppm bij volle schaaluitslag. Deze waarden zijn ruim voldoende om de CO<sub>2</sub>-concentratie van de mineraliserende grond van 25 tot 600 ppm te meten. Voor de CO<sub>2</sub>-metingen is dit apparaat gekozen.

## 4. PRAKTISCHE UITVOERING

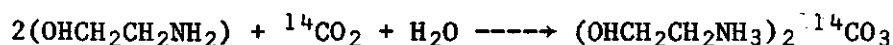
## 4.1. Apparatuur

De apparatuur, die schematisch is weergegeven in figuur 5, staat opgesteld in een vertrek met een constante temperatuur van 29 °C. Perslucht met een druk van 1,5 bar wordt door een 2-meter lange kolom (A) met Carb-o-sorb geleid. De flow door de apparatuur van de aldus CO<sub>2</sub>-vrij gemaakte lucht wordt door middel van een drukregelaar, met daarachter een precisie-naaldventiel, afgeregeld en zeer nauwkeurig constant gehouden op 30±0,5 ml per minuut. Dit is belangrijk omdat de concentratie van [<sup>14</sup>C]CO<sub>2</sub> in de lucht afhankelijk is van de snelheid waarmee de lucht door de grond in vat C



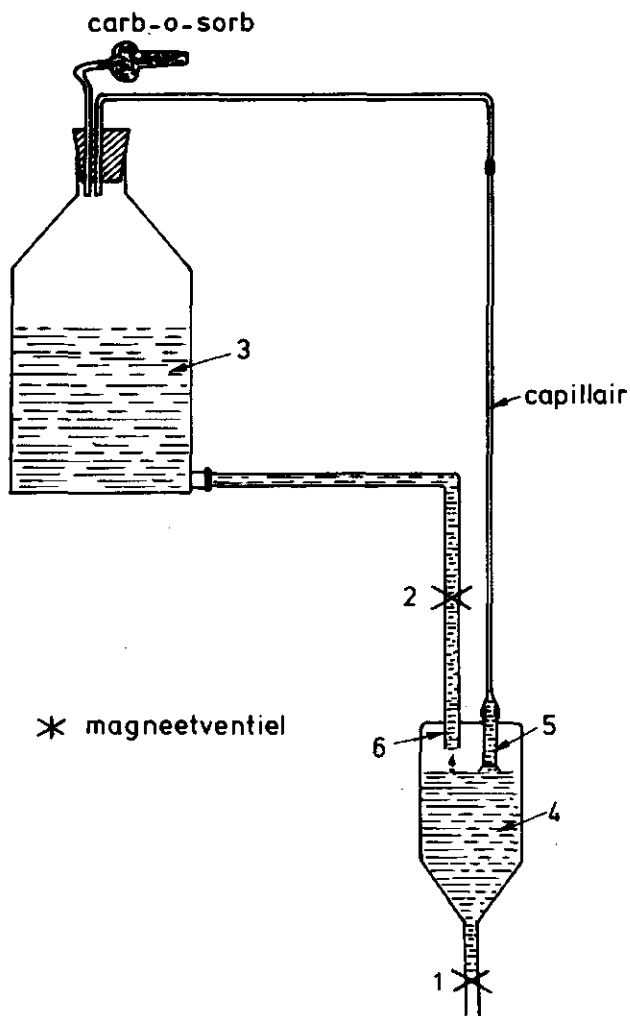
Figuur 5. Schematische weergave van de apparatuur voor het meten van [<sup>14</sup>C]CO<sub>2</sub> van mineraliserende met <sup>14</sup>C gemerkte grond.  
 Figure 5. Schematic presentation of the equipment for the measurement of [<sup>14</sup>C]CO<sub>2</sub> of mineralizing soil labelled with <sup>14</sup>C.

stroomt. De grond rust in vat C op een glazen filter en de lucht stroomt er van onder naar boven door. Water in vat B zorgt voor bevochtiging van de lucht, zodat de grond in vat C niet kan uitdrogen. Ter voorkoming van storende bacteriegroei (CO<sub>2</sub>-ontwikkeling) is aan het water in vat B sublimaat toegevoegd. In de apparatuur zijn driewegkranen geplaatst (fig. 5: 1-7), waardoor het mogelijk is de lucht een bepaalde route te laten volgen. De route voor het meten en absorberen van [<sup>14</sup>C]CO<sub>2</sub> uit de mineraliserende grond is: A-B-1-C-3-2-4-G-7-H. In G stroomt de lucht door de meetcuve van de IR-spectrofotometer. Evenredig aan de CO<sub>2</sub>-concentratie geeft de Miran II een signaal af dat met de recorder (M) wordt geregistreerd. Na de CO<sub>2</sub>-meting in de Miran II wordt de lucht via kraan 7 in vat H door ethanolamine geleid. Hierin wordt de [<sup>14</sup>C]CO<sub>2</sub> geabsorbeerd volgens



Het voor de reactie benodigde H<sub>2</sub>O is in de lucht aanwezig. Het absorptievat H wordt periodiek (b.v. elke drie uur) automatisch geledigd, nagespoeld met methanol en weer gevuld met ethanolamine. Dit wordt bewerkstelligd door magneetventielen (\*), die bediend worden door een schakelwals, welke b.v. één omwenteling in 3 uur maakt. Vat H wordt geledigd in telflesjes in een fractieverzamelaar (N) welke eveneens door de schakelwals wordt bediend. Het absorptievat wordt met methanol gespoeld om een memory-effect te voorkomen en om een goed homogeen telmonster te verkrijgen. De doseervaten I en J worden op hun beurt weer voorzien van methanol, respectievelijk ethanolamine vanuit de voorraadflessen K en L. Een doseervat is schematisch weergegeven in figuur 6 en werkt als volgt. Fles 3 bevat de te doseren vloeistof. Wanneer de schakelwals magneetventiel 2 open stuurt, terwijl magneetventiel 1 gesloten blijft, stroomt er vloeistof in vat 4. Wanneer de vloeistof in vat 4 buisje 5 heeft bereikt, stijgt het door een capillair tot aan het niveau in voorraadfles 3, waarna het transport van vloeistof tot stilstand komt. Nu gaat ventiel 2 dicht en ventiel 1 open zodat doseervat 4 leegstroomt. Het volume van de gedoseerde vloeistof is in geringe mate afhankelijk van de opstijghoogte in de capillair. Nadat ventiel 1 weer gesloten is kan het proces opnieuw beginnen.

Omdat kunststofslang in geringe mate doorlaatbaar is voor CO<sub>2</sub>, zijn alle



Figuur 6. Schematische weergave van doseervat voor het doseren van ethanolamine en methanol.

*Figure 6. Schematic presentation of dispenser for ethanolamine and methanol.*

leidingen in de opstelling zoveel mogelijk uitgevoerd in glasbuis. Waar dit onmogelijk is, zoals b.v. in de magneetventielen, wordt gebruik gemaakt van Tygonslang R 3603. De doorlaatbaarheid voor  $\text{CO}_2$  van dit type slang is gering en omdat er verder zeer spaarzaam gebruik van is gemaakt, heeft dit geen invloed op de metingen als gevolg van  $\text{CO}_2$  diffusie.

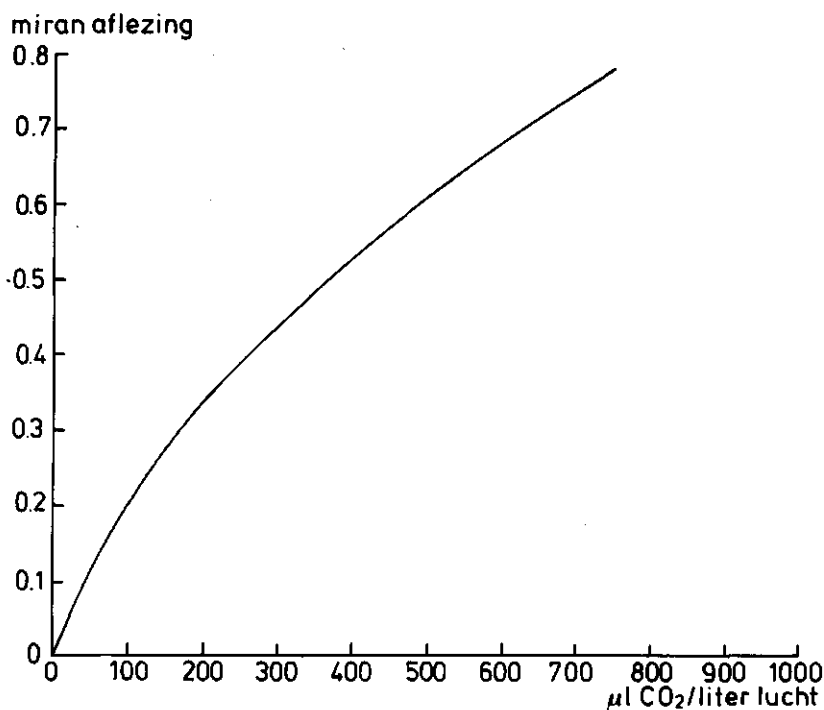
Het huis van de Miran II wordt doorgespoeld met  $\text{CO}_2$ -vrije lucht omdat de IR-bundel in het meetapparaat gedeeltelijk door omgevingslucht wordt

geleid. Variaties in de omgevingslucht hebben daardoor geen invloed meer op de meetresultaten.

De doorstroomcuve van de Miran II (G) wordt d.m.v. een verwarmingslint met temperatuurregelaar tot  $42^{\circ}\text{C}$  verwarmd, zodat er geen vocht kan condenseren op de AgBr-filters.

#### 4.2. IJking van de Miran II

De driewegkranen 4-5-6-7 (figuur 5) kunnen zo geschakeld worden, dat er een gesloten ijkcircuit ontstaat waarin opgenomen zijn: een slangenpomp (F), de Miran II en een doseerkraan (D). Deze kraan heeft vier aansluitingen welke zich twee aan twee tegenover elkaar bevinden. De kern is voorzien van één boring, waarvan het volume  $30,5\ \mu\text{l}$  bedraagt. Via de aansluitingen welke niet in het circuit zijn opgenomen wordt er zeer zuivere  $\text{CO}_2$  in de kraan gebracht. Door de kraan  $90^{\circ}$  te draaien wordt het  $\text{CO}_2$  opgenomen in dit ijkcircuit. Pomp F zorgt ervoor dat het na enige tijd homogeen door het ijkcircuit verdeeld is. D.m.v. herhaalde  $\text{CO}_2$ -doseringen van  $30,5\ \mu\text{l}$  wordt de Miran geijkt (figuur 7). Bij de berekeningen van de



Figuur 7. IJkcurve voor  $\text{CO}_2$  meting met Miran II.

Figure 7. Calibration curve for  $\text{CO}_2$  measurement with Miran II.

CO<sub>2</sub>-concentratie na dosering wordt rekening gehouden met het verschil in temperatuur tussen de meetcuvet (42 °C) en de doseerkraan (29 °C). Het CO<sub>2</sub>-absorptievat E wordt gebruikt (via de kranen 5 en 6) om na de ijking het CO<sub>2</sub> uit het circuit te verwijderen. De Miran wordt geijkt voor een aantal meetbereiken welke d.m.v. schakelaars kunnen worden ingesteld (tabel I).

TABEL I. Meetbereik van de Miran II.  
TABLE I. *Measuring range of the Miran II.*

Meetbereik (ppm)	Gevoeligheid (%)	Nauwkeurigheid (%)
0- 350	0,5	1
0- 950	0,5	1
0-1900	0,5	1
0-9600	0,5	3

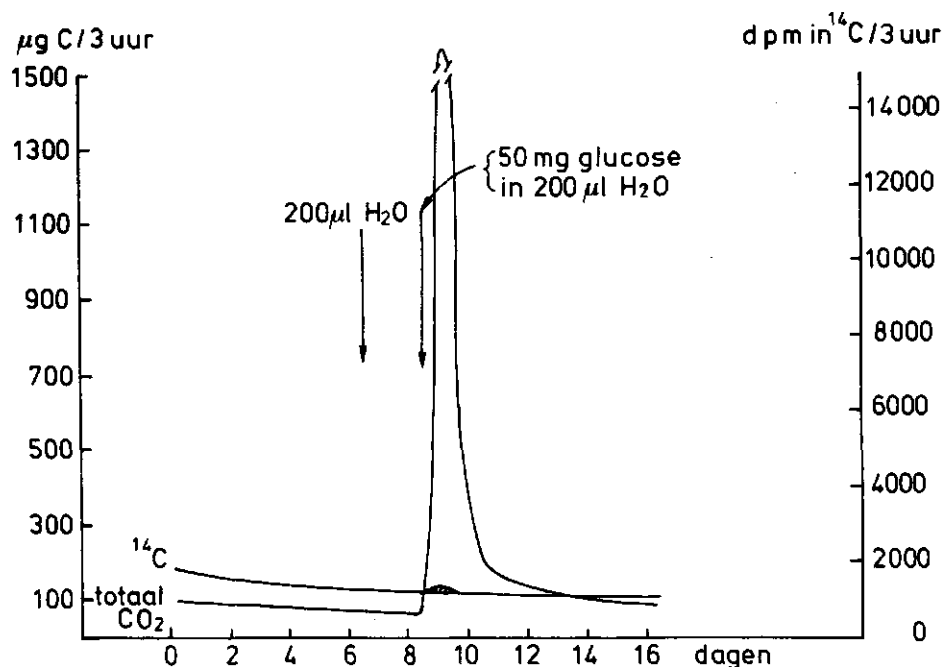
De kranen 1-2-4-7 kunnen zo geschakeld worden, dat er slechts CO<sub>2</sub>-vrije lucht door de Miran wordt geleid, waardoor de nullijn kan worden bepaald. Na bewerking van de grond kan het noodzakelijk zijn het erin aanwezige CO<sub>2</sub> te verwijderen. Dit gebeurt door schakeling van de kranen 1 en 3 en afvoer in de omgevingslucht na absorptie van [<sup>14</sup>C]CO<sub>2</sub> in een val.



## 5. TOEPASSING

Ter illustratie van de hierboven beschreven methode om totaal  $\text{CO}_2$  en  $^{14}\text{C}$  te bepalen worden de resultaten besproken van een experiment over het z.g. priming effect.

Vijfendertig gram, met  $^{14}\text{C}$  gemerkte, grond wordt in porties van 3,5 g in vat B (figuur 5) gebracht. Om de mineralisatie op gang te brengen, wordt na elke portie 100  $\mu\text{l}$  vers grondextract toegediend. Dit extract is verkregen door 10 gram grond uit het veld te schudden met 25 ml  $\text{H}_2\text{O}$  en af te filtreren. Nadat er enige dagen bevochtigde  $\text{CO}_2$ -vrije lucht bij 29  $^\circ\text{C}$  door de grond is geleid en de  $^{14}\text{C}$  ontwikkeling stationair is geworden, wordt er met de metingen begonnen (figuur 8). Op de zesde dag wordt er 200  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}$  in de grond geïnjecteerd. Hierop volgt geen verhoogde  $\text{CO}_2$ -ontwikkeling, hetgeen wel gebeurt als de grond gemengd wordt (Rovira en



Figuur 8. Grafische weergave van de resultaten van een priming experiment.  
 Figure 8. Graphic presentation of the results of a priming experiment.

Greacen, 1957). Op de achtste dag wordt er 50 mg glucose (20 mg C), opgelost in 200  $\mu$ l  $H_2O$ , in de grond geïnjecteerd. Het substraat (glucose) wordt in de grond geïnjecteerd om storende mengeffecten bij het toevoegen te vermijden. Als gevolg van de ontleding van de glucose treedt er een sterke  $CO_2$ -ontwikkeling op. Bovendien wordt de basale  $[^{14}C]CO_2$ -ontwikkeling van de grond onder invloed van deze glucose verhoogd. Deze verhoging, het z.g. priming effect, wordt uitgedrukt als percentage van de basale  $[^{14}C]CO_2$ -ontwikkeling zonder substraattoevoeging en bedraagt voor dit experiment  $7,0 \pm 0,8\%$ . Van de 60 mg toegevoegde glucose wordt in vier dagen 10,7 mg C als  $CO_2$  verademd. De resterende 9,3 mg bevindt zich nog in de grond in de vorm van biomassa en ontledingsprodukten daarvan. Met de beschreven methode kunnen geringe verschillen in de  $[^{14}C]CO_2$ -ontwikkeling van met  $^{14}C$  gemerkte grond betrouwbaar gemeten worden. De methode leent zich ook voor  $[^{14}C]CO_2$  metingen aan levensprocessen van andere organismen zoals planten en dieren.

## 6. SAMENVATTING

Na evaluatie van een aantal mogelijkheden om  $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$  betrouwbaar te meten, wordt er een methode beschreven, waarbij gebruik gemaakt wordt van een infrarood-spectrofotometer (fabrikaat Wilks) om de hoeveelheid totaal- $\text{CO}_2$  te meten en vloeistofscintillatiemeting voor het bepalen van de  $^{14}\text{C}$ -activiteit. Er wordt een opstelling beschreven, waarmee het mogelijk is - geheel automatisch - om de drie uur de  $^{14}\text{C}$ -activiteit te meten van mineraliserende grond, waarvan de humus met  $^{14}\text{C}$  gemerkt is. De hoeveelheid totaal- $\text{CO}_2$  wordt continu gemeten.

## 7. SUMMARY

After the evaluation of a number of possibilities to reliably measure [ $^{14}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub>, a method is described using I.R. spectrometry and liquid scintillation counting to determine total CO<sub>2</sub> and  $^{14}\text{C}$  respectively. An apparatus to measure the  $^{14}\text{C}$  activity originating from  $^{14}\text{C}$  labelled mineralizing soil automatically each three hours is described. Total CO<sub>2</sub> is continuously measured.

## 8. LITERATUUR

- Bosshart, R.E. and R.K. Young, 1972. Preparation of gas samples for liquid scintillation counting of carbon-14. *Anal. Chem.* 44: 1117-1120.
- Bransome (jr.), E.D., 1970. The current status of liquid scintillation counting. Grune and Stratton, N.Y., London.
- Bruins, E.H., 1963. Determination of carbon dioxide using a highfrequency oscillator. *Anal. Chem.* 35: 934-936.
- Jenkins, D.S., 1963. The priming action. Rep. FAO/IAEA Technical Meeting, Brünswick-Völkenrode 9-4 Sept. 1963, pp. 199-208.
- Luft, K.F., G. Kessler und K.H. Zörner, 1967. Nicht dispersive Ultra-rot Gasanalyse mit dem Unor. *Chem. Ing. Techn.:* 937-945.
- Parmentier, J.H. and F.E.L. ten Haaf, 1969. Developments in liquid scintillation counting since 1963. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 20: 305-334.
- Rovira, A.D. and E.L. Greacen, 1957. The effect of aggregate disruption on the activity of microorganisms in soil. *Austr. J. Agric. Res.* 8: 659-673.