

A
-
2
E
23

Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente
Vestiging Naaldwijk
Postbus 8, 2670 AA Naaldwijk
Tel. 0174-636700, fax 0174-636835

VALIDATIE BICARBONAATBEPALING MET BEHULP VAN EEN SEGMENTED FLOW AUTOANALYSESYSTEEM

Water en waterige extracten van grond en substraten

Project 2.501

C.W. van Elderen
Naaldwijk, maart 2000



Intern Rapport 220

2203231

INHOUD

SAMENVATTING	5
1. INLEIDING	7
2. VALIDATIE – ONDERZOEK	8
2.1 Herkomst van de methode en principe	8
2.2 Bepalingsgrens	8
2.3 Werkgebied en gevoeligheid	9
2.4 Nauwkeurigheid	10
2.5 Vergelijking methoden	11
2.6 Inter-laboratoriumresultaten	12
3. CONCLUSIE	14

LITERATUUR

- BIJLAGE 1. Data vaststellen bepalingsgrens**
- BIJLAGE 2. Data vaststellen werkgebied en gevoeligheid**
- BIJLAGE 3. Data vergelijking methoden**
- BIJLAGE 4. Voorlopig voorschrift bepaling**

SAMENVATTING

De bicarbonaatbepaling wordt al jaren op het chemisch laboratorium uitgevoerd in water- en waterige extracten volgens een titratiemethode. De toename van het monsteraanbod heeft de opzet van een automatische bepaling noodzakelijk gemaakt. Na afweging van verschillende mogelijkheden is gekozen voor uitwerking van een methode met behulp van een 'segmented flow autoanalysesysteem'.

In het validatie-onderzoek is vastgesteld dat de methode voor het gehele meettraject een kwadratisch verband laat zien tussen concentratie en meetsignaal. De bepalingsgrens is vastgesteld op 0,10 mmol bicarbonaat l⁻¹. Het optimale meetgebied ligt tussen de 1,0 en 5,0 mmol bicarbonaat l⁻¹. De variatiecoëfficiënt van herhaalde metingen komt hierbij uit op 1 à 2%. In het gebied tussen de 0,1 en 1,0 mmol bicarbonaat l⁻¹ moet rekening worden gehouden met een relatieve variatie van ca. 5% oplopend tot 20% voor waarden onder 0,5 mmol bicarbonaat l⁻¹. De binnen-laboratorium reproduceerbaarheid over een langere periode komt op 0,52 mmol bicarbonaat l⁻¹ voor een standaardoplossing 4,0 mmol bicarbonaat l⁻¹.

Vergelijking van de titratiemethode met de automatische methode laat een lineair verband zien voor zowel watermonsters als 1:2-extracten van kasgrond. Wel bestaat er een negatief intercept (ca. 0,25 mmol HCO₃ l⁻¹) dat vermoedelijk veroorzaakt wordt door overschatting van het gehalte bij de titratie-methode. Vergelijking met resultaten van andere laboratoria gaf uitsluitend Z-scores kleiner dan nul (-0,02 tot -1,14).

De methode is inmiddels ruim een half jaar in gebruik en kenmerkt zich door weinig analytische problemen. De capaciteit van het analysesysteem is ingesteld op 40 waarnemingen per uur. In praktijk komt het erop neer dat per werkdag ca. 200 monsters geanalyseerd kunnen worden.

1. INLEIDING

Het afgelopen jaar heeft het chemisch laboratorium alle water-, substraat- en grondmonsters van het PBG, waarvan voorheen de analyses werden uitgevoerd op een andere locatie ofwel uitbesteed aan een particulier laboratorium, in eigen beheer bepaald. Met het uitbreiden van het monsteraanbod bleek automatiseren van de toegepaste analysetechniek voor de bepaling van het gehalte bicarbonaat al snel noodzakelijk. De bepaling werd uitgevoerd volgens een titratiemethode. Deze methode was enigszins geautomatiseerd, maar ontoereikend voor de ontstane monsteraantallen. Een forse investering bleek noodzakelijk om het systeem zodanig op te waarderen dat de gewenste capaciteit gehaald kan worden. Bijkomend nadeel van de titratie-methode is het storende effect dat de aanwezigheid van bufferende componenten in het monster kan hebben. Met name fosfaat, dat in het toegepaste pH-gebied van de titratie wordt omgezet van HPO_4^{2-} naar H_2PO_4^- , kan een gedeelte van het titrant verbruiken (Skoog, 1982). Alternatief is de titratie dubbel uitvoeren; eerst met zuur titreren naar pH 4,2 waarbij bicarbonaat wordt omgezet en alle gevormde kooldioxide wordt uitgedreven; titreren met loog tot pH 8,5 en opnieuw titreren met zuur tot pH 4,2. Het verschil tussen de twee zuur-titraties geeft de concentratie bicarbonaat (Yan Shi et al., 1993).

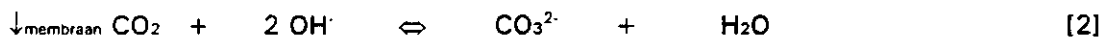
Het voorgaande in ogenschouw genomen is, mede uit kostenoverweging, de keuze gemaakt voor de uitbreiding van het 'segmented flow autoanalysesysteem'. Het laboratorium beschikt al over een dergelijk systeem voor de bepaling van diverse anionen, zodat plaatsing van een bicarbonaatmodule niet veel problemen geeft. Door implementatie in het bestaande systeem kan de analyse simultaan uitgevoerd worden met een vijftal andere bepalingen. De auto-analysermethode is gebaseerd op omzetting van bicarbonaat naar kooldioxide (Anoniem, 1996). Het gevormde kooldioxide diffundeert door een membraan, waarna middels een kleurreactie de oorspronkelijk aanwezige hoeveelheid bicarbonaat kwantitatief kan worden vastgesteld. Storing van buffering van de oplossing door andere verbindingen dan bicarbonaat speelt bij deze methode dus geen rol meer.

Volgens opgave van de leverancier van het systeem zou een detectiegrens onder de $0,5 \text{ mmol bicarbonaat l}^{-1}$ gemakkelijk haalbaar zijn. Naast de gewenste detectiegrens sluit ook het meetgebied aan op de wensen. De capaciteit van het systeem komt, afhankelijk van gewenste detectiegrens en vereiste nauwkeurigheid van de metingen (ook de relatie met de simultaan uitgevoerde bepalingen moet hierbij betrokken worden), tussen de 30 tot 60 waarnemingen per uur uit.

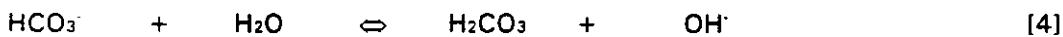
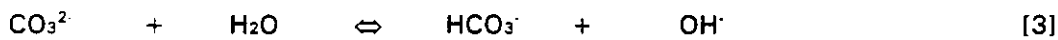
2. VALIDATIE – ONDERZOEK

2.1 HERKOMST VAN DE METHODE EN PRINCIPE

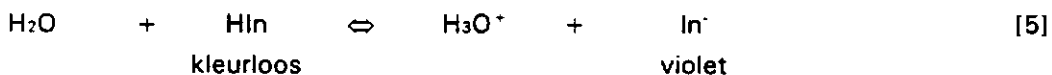
De analysemethode met behulp van de 'segmented flow autonalyser' is ontwikkeld door Skalar (Anoniem, 1996). De methode is gebaseerd op omzetting van bicarbonaat naar kooldioxide door toevoegen van zuur [1]. Deze reactie verloopt volledig omdat er door het verdwijnen van koolzuurgas uit de oplossing het evenwicht constant naar rechts verschuift. Het gevormde koolzuurgas diffundeert door een membraan naar een basische carbonaat/bicarbonaat bufferoplossing met daaraan toegevoegd een zuur/base indicator. Door het basisch milieu wordt koolzuurgas omgezet naar carbonaat [2], waardoor de OH⁻-concentratie in deze oplossing daalt. Deze pH-verlaging van het systeem veroorzaakt de verkleuring van de indicator [5].



De buffercapaciteit zorgt voor een evenwichtssysteem [3 en 4] dat evenredig met de oorspronkelijk aangeboden concentratie bicarbonaat verschuift naar de zure kant. De functie van deze buffer is hoofdzakelijk het dempen van de verschuiving van het evenwicht.



De indicator fenolftaleïne reageert op de hoeveelheid H₃O⁺ in de oplossing [5]. Deze indicator, van het 'zure type', geeft in basisch milieu een sterk violette kleur en is in de zure vorm kleurloos.



De detectie van de kleur van de indicator in de oplossing wordt spectrometrisch uitgevoerd. Dit heeft als voordeel dat een zeer kleine kleurverandering uitstekend kan worden vastgesteld. Nadeel is dat de concentratie van de indicator, in dit systeem 62 μmol l⁻¹, zeer laag moet blijven. Een té hoge concentratie geeft een dusdanig sterke kleur in de meetoplossing dat spectrometrische bepaling niet meer mogelijk is. Deze beperking geeft dan ook direct de functie van het buffersysteem weer, het gedeeltelijk compenseren van de hoeveelheid verlies aan OH⁻-ionen. Voorgaande reacties verlopen in evenwicht omdat een autoanalyser in principe een gesloten systeem vormt. Wel moet gezorgd worden dat CO₂ uit de buitenlucht niet van invloed kan zijn op de bepaling. Zowel de lucht boven de voorraad bufferoplossing als de ingebrachte lucht via het 'bubble-systeem' van de analyser moet worden gewassen door het leiden door een 6M NaOH-oplossing.

2.2 BEPALINGSGRENS

Voor het vaststellen van de bepalingsgrens zijn een reeks standaarden 0,05 – 0,10 – 0,20 – 0,40 – 0,80 – 1,60 mmol bicarbonaat l⁻¹ achtereenvolgend in

tienvoud gemeten ten opzichte van water. Elke afzonderlijke meting wordt afgewisseld met een blanco. Het meetsignaal van de standaardoplossing wordt gecorrigeerd met het gemiddelde blanco-sigitaal voor en na de meting. In Bijlage 1 zijn alle data opgenomen. In Tabel 1 is van de tien metingen het gecorrigeerde gemiddelde mV-sigitaal en de daarvan berekende standaardafwijking en variatiecoëfficiënt weergegeven.

Tabel 1 - Gemiddeld sigitaal, standaard afwijking en variatiecoëfficiënt van de standaard-oplossingen bij tien herhalingen

concentratie mmol HCO ₃ l ⁻¹	sigitaal mV	standaardafwijking mV	variatiecoëfficiënt %
0,05	23	2,8	12,3
0,10	43	3,3	7,6
0,20	92	3,9	4,3
0,40	192	3,2	1,6
0,80	370	8,1	2,2
1,60	750	4,4	0,6

Vanaf concentratie 0,10 mmol bicarbonaat l⁻¹ neemt de mV-waarde lineair toe. De berekende relatie zal altijd een intercept kennen van ca. 20 mV. Deze waarde is ingesteld en noodzakelijk om de basislijn van de apparatuur te kunnen vast houden. Aangezien de monsters geen verdere voorbewerking ondergaan, dus direct worden gemeten, kan een bepalingsgrens van 0,10 mmol bicarbonaat l⁻¹ aangehouden worden. De variatie in meetwaarde, óók onder de 0,50 mmol bicarbonaat l⁻¹ blijkt bijzonder laag, over het onderzochte meetgebied kleiner dan 5% relatief.

Voor het op juiste wijze vaststellen van de bepalingsgrens is het ook noodzakelijk de variatie in sigitaal van blanco metingen te kennen. In praktijk blijkt met het datasysteem, door het piekherkenningsmechanisme, onmogelijk een groot aantal blanco-waarden achter elkaar te meten.

2.3 WERKGEBIED EN GEVOELIGHEID

Het werkgebied van de methode ligt tussen 0,10 en 5,0 mmol bicarbonaat l⁻¹. De standaardreeks is in het meettraject niet-lineair. Het beschikbare datasysteem kent slechts twee mogelijkheden voor curve-fitting van de standaardreeks: het lineaire model of de kwadratische functie ($y = ax^2 + bx + c$) waarbij het snijpunt tussen x- en y-as op gedwongen nulwaarde wordt gezet. Om te toetsen of het toegepaste kwadratische model voldoet ten opzichte van de spreiding in herhaalde waarnemingen van standaarden is de LOF-test (Vandenginste, 1998) uitgevoerd. Hiertoe zijn een vijftal standaarden bereid met de concentraties 1,0 – 2,0 – 3,0 – 4,0 – 5,0 mmol bicarbonaat l⁻¹. Deze reeks is in drievoud gemeten. De gegevens van de afzonderlijke meetwaarden zijn in Bijlage 2 vermeld. De toetswaarde voor de test $F_{0.05,3,10} = 3.71$ blijkt kleiner dan de gevonden waarde 7.02. Wordt onder dezelfde omstandigheden gebruik gemaakt van het lineaire model, dan komt de testwaarde op 112 uit. Hieruit volgt dat de toegepaste kwadratische functie niet optimaal is, maar wel goed aansluit aan de gewenste betrouwbaarheid. Dat de kwadratische

relatie voldoet wordt in paragraaf 2.4 duidelijk, waar blijkt dat na berekening met het model een standaardoplossing nagenoeg dezelfde concentratie geeft als theoretisch aanwezig moet zijn. Voor metingen in de praktijk kan met vijf standaardoplossingen, in combinatie met een ijklijn-berekening volgens het kwadratische model, worden volstaan. Het kleinst mogelijke mV-sigitaal van de spectrometer (1 mV) komt overeen met 0,002 mmol bicarbonaat l⁻¹. Hiermee is de methode voldoende gevoelig om uitlezing op twee decimalen nauwkeurig over het gehele meetgebied mogelijk te maken.

2.4 NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van de methode is getest door tien maal, op achtereenvolgende dagen, een reeks standaarden als monster te meten. Bij deze metingen is gebruik gemaakt van het voorlopige analysevoorschrift van Bijlage 4. Uit de gegevens, opgegeven in Tabel 2, is het lineaire verband berekend tussen de ware waarde (x) en de gevonden waarde (y). Gevonden is de volgende relatie:

$$y = 0,997 x - 0,002 \quad r^2 = 0,99996$$

Uit de gevonden helling en snijpunt blijkt dat er bij de meting geen sprake is van een systematische afwijking. De hoge correlatiecoëfficiënt van de relatie geeft aan dat tevens de toevallige afwijking van de methode zeer klein is. In het meetgebied boven 0,20 mmol bicarbonaat l⁻¹ is een variatie gevonden van 1 à 2% in de meetwaarde.

Tabel 2 - Nauwkeurigheid van de methode over het werkgebied (n = 10 voor elke concentratie)

concentratiestandaard mmol HCO ₃ l ⁻¹	gemeten concentratie mmol HCO ₃ l ⁻¹	standaardafwijking mmol HCO ₃ l ⁻¹	variatiecoëfficiënt %
0,10	0,10	0,008	8,5
0,20	0,19	0,011	5,5
0,50	0,50	0,011	2,1
1,00	1,00	0,016	1,6
2,00	2,01	0,016	0,8
3,00	2,94	0,019	0,6
4,00	3,98	0,047	1,2
5,00	5,00	0,037	0,7

Aansluitend op voorgaande metingen zijn een aantal monsters, water, voedingsoplossingen en waterige extracten van grond of substraten, gemeten in tweevoud. Van deze metingen is de standaardafwijking bepaald tussen de resultaten van de tweevoud-metingen. Om een indruk te krijgen van de nauwkeurigheid verdeeld over het werkgebied van de methode, zijn de resultaten in drie klassen gesplitst. De methode blijkt ook voor monsters nauwelijks af te wijken in variatie voor tweevoud-waarnemingen als de variatie in de eerder gemeten standaardoplossingen. De methode laat voor het gehele werkgebied een variatie zien kleiner dan 2% relatief. De methode voldoet voor het grootste gedeelte van het

werkgebied, waarin de fractie bicarbonaat 10^{-4} tot 10^{-6} (uitgedrukt in mg l^{-1}) in de monsteroplossing bedraagt, ruimschoots aan de gestelde eis van een maximaal toelaatbare relatieve standaardafwijking van 5% (Bavel, 1995).

Tabel 3 - Nauwkeurigheid van de methode voor tweevoudwaarnemingen van monsters

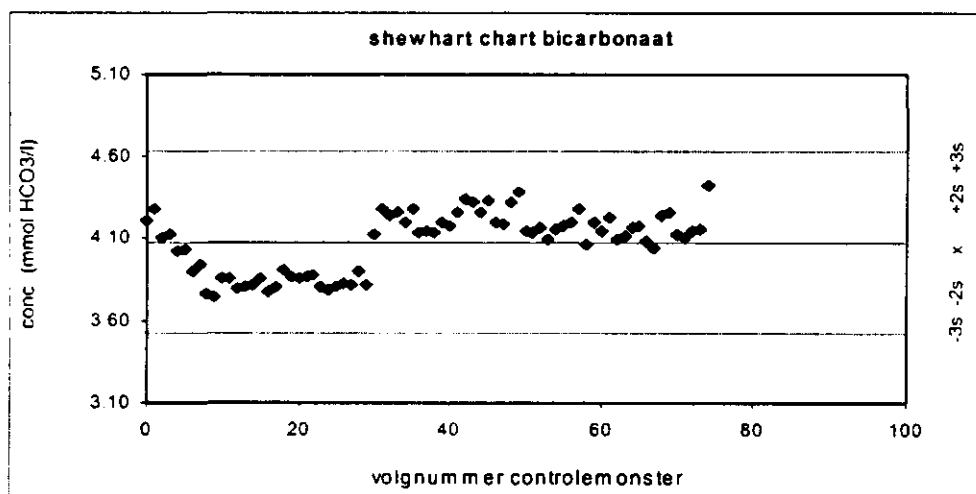
klasse $\text{mmol HCO}_3 \text{ l}^{-1}$	n	gemiddelde $\text{mmol HCO}_3 \text{ l}^{-1}$	standaardafwijking $\text{mmol HCO}_3 \text{ l}^{-1}$	variatiecoëfficiënt %
0,10 - 0,99	18	0,45	0,006	1,44
1,00 - 2,49	9	1,67	0,034	2,03
2,50 - 5,00	14	3,55	0,019	0,53

De reproduceerbaarheid van de methode is getest door over een langdurige periode een controlemonster (concentratie $4,0 \text{ mmol bicarbonaat l}^{-1}$) bij elke serie mee te analyseren. De analyses zijn in routine uitgevoerd door diverse analisten. In totaal zijn over een periode van twintig weken 75 waarnemingen gedaan. De binnen-laboratorium reproduceerbaarheid is vastgesteld volgens NEN 5725, in formule:

$$R_L = 2,8 \times S_L = 2,8 \times 0,185 = 0,52 \text{ mmol HCO}_3 \text{ l}^{-1}$$

Waarin : R_L = binnen-laboratorium reproduceerbaarheid
 S_L = de standaardafwijking van de gevonden meetwaarden

De gevonden waarde is acceptabel en voldoet aan de verwachting van de methode. De resultaten zijn uitgezet in een Shewhart kaart (Figuur 1).



Figuur 1 - Controlekaart bicarbonaatbepaling met de SFA-methode (n = 75)

2.5 VERGELIJKING METHODEN

Voor vergelijking van de SFA-methode met de titratiemethode zijn een aantal monsters volgens beide methoden geanalyseerd. De monsters zijn gesplitst in een categorie water, voedingsoplossingen en waterige extracten (1:2 vol/vol) van kasgrond. Waterige extracten (1:1½ vol/vol) van venige substraten blijken door de

meestal lage pH van het extract nauwelijks tot geen bicarbonaat te bevatten en zijn bij de vergelijking buiten beschouwing gelaten. In Tabel 4 is een overzicht opgesteld van de resultaten van de vergelijking van de methoden volgens lineair verband. Bijlage 3 geeft een overzicht van alle data.

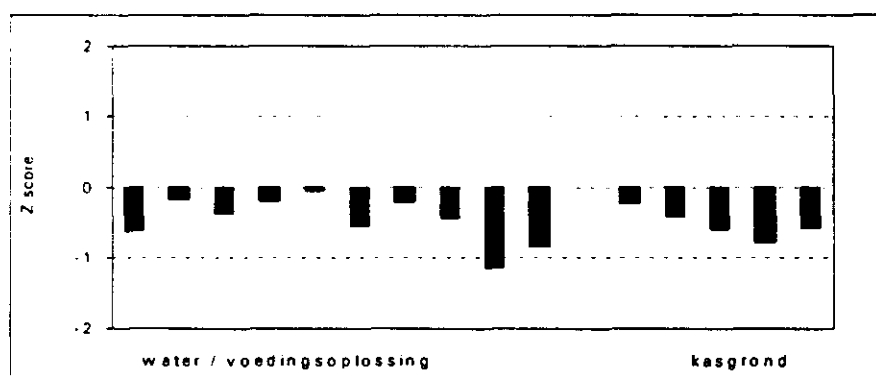
Tabel 4: Vergelijking SFA-methode (y) met de titratie-methode (x)

monstersoort	n	gemidd. SFA mmol HCO ₃ l ⁻¹	gemidd. titratie mmol HCO ₃ l ⁻¹	richting	snijpunt	r
water/voed.opl.	28	4,27	4,66	0,97	- 0,26	0,999
kasgrond	14	0,44	0,67	1,02	- 0,24	0,972

Voor watermonsters en voedingsoplossingen is het verschil tussen de methoden zeer klein. De meting met de SFA-methode tendeeert naar een constante lagere waarde ten opzichte van de titratie-methode, dat resulteert in een negatief intercept. Monsters met een bicarbonaatconcentratie kleiner dan 0,5 mmol l⁻¹ zullen veelal bij de titratie-methode een waarde geven, terwijl bij gebruik van de SFA niets wordt gevonden. Mogelijk speelt hierbij een rol het fosfaatgehalte van monsters dat bij een titratie óók wordt meebepaald. De indruk is dat de SFA-methode aldus een resultaat zal geven dat meer overeenkomstig is met de werkelijke concentratie bicarbonaat in het monster. Vergelijking van de methoden voor waterige extracten van kasgrond (en extracten van venige substraten) wordt bemoeilijkt door de veelheid aan lage gehalten. De gevonden relatie tussen de methoden komt overeen met de relatie gevonden bij watermonsters. Ook hier geldt dat het negatieve intercept waarschijnlijk het gevolg is van de fosfaatconcentratie in de monsters.

2.6 INTER-LABORATORIUMRESULTATEN

Het uitwisselingsprogramma tuinbouwkundige monsters is té kleinschalig om de inter-laboratorium reproduceerbaarheid van de methode vast te stellen. Naast het geringe aantal deelnemers worden ook de verschillende methoden, zowel de in dit verslag beschreven autoanalyse-methode als de twee beschreven titratie-methoden, toegepast. Wel is de prestatie van de analysemethode te testen ten opzichte van de resultaten verkregen door de andere laboratoria. Figuur 2 geeft grafisch de Z-scores van de verschillende monstersoorten weer.



Figuur 2 - Z-scores van de SFA-methode ten opzichte van de overige laboratoria

Voor substraat-monsters zijn geen gegevens beschikbaar. Uit de berekening van de Z-scores blijkt dat met de methode een te lage concentratie (alle scores zijn kleiner dan nul) wordt gevonden. De absolute waarden van de Z-scores zijn echter klein, hetgeen een zeer goede overeenkomst met de andere laboratoria suggereert. De hoge variatie, gemiddeld bijna 50%, tussen de resultaten van de laboratoria geeft aan dat de methode niet ideaal is. Voor een deel is dit te wijten aan het grote aantal waarnemingen kleiner dan 0,5 mmol bicarbonaat l⁻¹, waardoor de metingen rond de ondergrens van de methode liggen. Voor routinemetingen, waarbij de resultaten niet direct als absoluut getal worden gezien, maar rekening gehouden wordt met vastgestelde intervallen voor advisering, geeft de methode voldoende informatie.

3. CONCLUSIE

De bicarbonaatbepaling met behulp van de 'segmented-flow autoanalyser' voldoet aan de eisen die het chemisch laboratorium stelt aan betrouwbaarheid en snelheid van werken. De methode meet de werkelijke concentratie bicarbonaat, in tegenstelling tot de titratie-methode waar aan de hand van de hoeveelheid toegevoegd zuur het gehalte wordt afgeleid. Met de autoanalyser-methode worden ten opzichte van de titratie-methode veelal iets lagere resultaten gevonden. De reden is de mogelijke overschatting van het bicarbonaatgehalte bij de titratie door aanwezigheid van fosfaat in de monsters.

De methode heeft de afgelopen periode bewezen betrouwbaar en probleemloos in het systeem te werken. Wel zijn problemen voorgekomen met de kwaliteit van het beschikbare gedemineraliseerd water, waarvan meerdere malen bleek dat de pH-waarde te laag was om de bepaling goed uit te kunnen voeren.

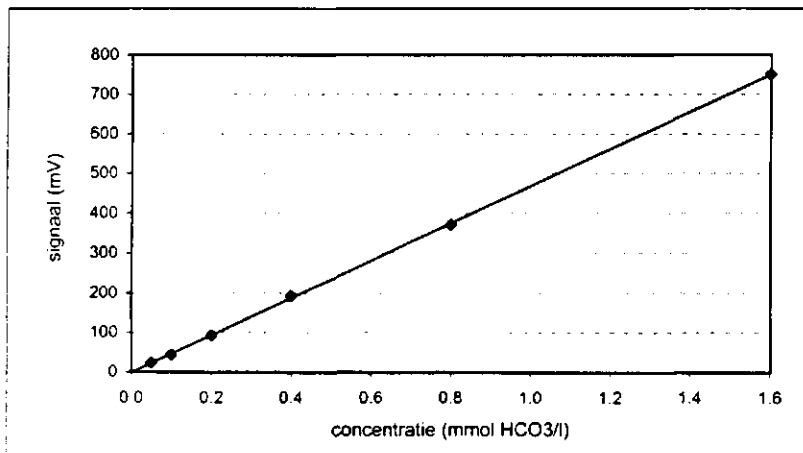
Er is tijdwinst geboekt wat betreft inzet van personeel, ten opzichte van de titratie-methode.

LITERATUUR

- Anoniem. 1996. Skalar methods. Bicarbonate analysis of water and soil extracts, catnr. 185-312. Skalar Breda
- Baars, B., J. Crombeen, J. Maaskant. 1995: Kwaliteitszorg in de chromatografie. Chromatografie in de praktijk, deel 3. Ten Hagen & Stam BV, Den Haag.
- Bavel, M. van, A. Boot, J. Bravenboer, F. de Goey, C. Maas, A. van der Putten en W. Verwaal. 1996. Validatie van methoden. De warenchemicus 26. 1-90.
- Korpel-Arkesteijn, V.M.J., C.W. van Elderen. 1994: Voorschriftenbundel analysemethoden water. PBG, Naaldwijk.
- Skoog, D.A., D.M. West. 1982. Theory of neutralisation titrations for simple systems. In: Holt, Rinehart and Winston (Eds.), Fundamentals of Analytical Chemistry.
- Vandeginste, B.G.M. and L. Buijdens. 1998. Methodevalidatie. Stichting Vovol, Den Haag.
- Yan Shi, D.H. Byrne, D.W. Reed. 1993. Influence of bicarbonate level on iron-chlorosis development. J. Plant Nutr. 16(9), 1675-1689.

Bijlage 1. Data vaststellen bepalingsgrens

volgnr.	concentratie standaard mmol/l					
	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6
1	27	36	87	187	369	753
2	23	41	94	192	374	754
3	22	44	89	194	374	751
4	24	42	88	193	360	746
5	23	41	96	192	364	756
6	26	45	94	194	366	754
7	23	43	96	193	365	745
8	25	47	95	189	382	749
9	19	44	96	199	384	748
10	18	47	87	192	364	743
gem.	23	43	92.2	192.5	370.2	749.9
st.dev.	2.83	3.27	3.94	3.17	8.07	4.38
vc (%)	12.3	7.6	4.3	1.6	2.2	0.6



Bijlage 2. Data vaststellen werkgebied en gevoeligheid

HCO3 mmol/l	waarde 1 mV	waarde 2 mV	waarde 3 mV	y gemidd	y ber	(ygem-yber) ² x3	(y1-ygem) ²	(y2-ygem) ²	(y3-ygem) ²
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	470	464	484	473	451	1461	7	75	128
2	968	989	995	984	968	730	256	25	121
3	1498	1504	1521	1508	1553	6275	93	13	178
4	2154	2174	2198	2175	2206	2748	455	2	514
5	2924	2951	3021	2965	2925	4880	1708	205	3099
som :						16094	2520	321	4040

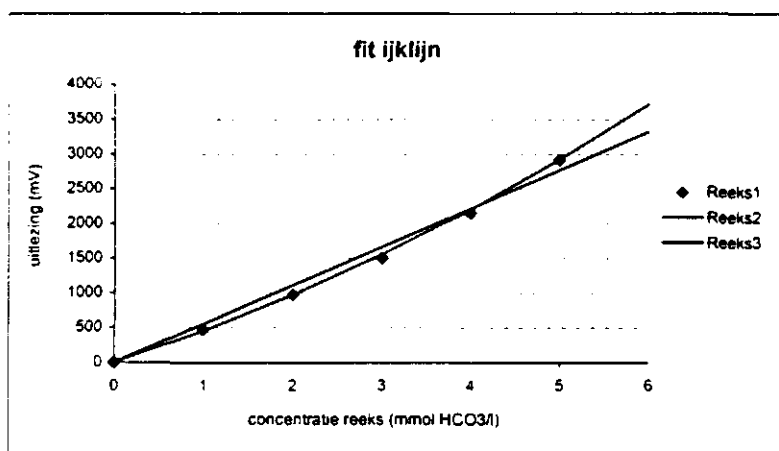
Relatie:	c=	0
y=c+bx+ax ²	b=	417
	a=	33.6
Correlatie curve (ber):		0.99650
Correlatie curve (gemeten):		0.99483

Sslof = som H kolom	16094
Sspe = som I,J,K kolommen	6881
Beslissing :	7.017
(n=6, m=18)	
Tabelwaarde (3,10):	3.71

HCO3 mmol/l	waarde 1 mV	waarde 2 mV	waarde 3 mV	y gemidd	y berek.	(ygem-yber) ² x3	(y1-ygem) ²	(y2-ygem) ²	(y3-ygem) ²
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	470	464	484	473	554	19845	7	75	128
2	968	989	995	984	1108	46128	256	25	121
3	1498	1504	1521	1508	1662	71456	93	13	178
4	2154	2174	2198	2175	2216	4961	455	2	514
5	2924	2951	3021	2965	2770	114465	1708	205	3099
som :						256856	2520	321	4040

Relatie:	a=	554
y=ax+b	b=	0
Correlatie curve (ber):		1.000
Correlatie curve (gemeten):		0.99482982

Sslof = som H kolom	256856
Sspe = som I,J,K kolommen	6881
Beslissing :	111.99
(n=6, m=18)	
Tabelwaarde (3,10):	3.71



Reeks1=	meetwaarden
Reeks2=	berekend kwadrantfunctie
Reeks3=	berekend lineair functie

Bijlage 3. Data vergelijking methoden

watermonsters						
nummer	SFA methode			titratie methode		
	enk	dup	gem	enk	dup	gem
1	13.40	12.86	13.13	13.67	13.54	13.61
2	11.24	11.04	11.14	11.80	11.60	11.70
3	7.72	7.46	7.59	7.95	7.74	7.84
4	3.48	3.45	3.47	3.89	3.90	3.90
5	6.13	6.27	6.20	6.86	6.77	6.82
6	0.46	0.44	0.45	0.83	0.82	0.83
7	1.02	1.04	1.03	1.43	1.44	1.44
8	2.18	2.19	2.19	2.58	2.61	2.60
9	4.81	4.57	4.69	5.23	5.16	5.19
10	0.91	1.00	0.96	1.40	1.42	1.41
11	1.23	1.30	1.27	1.81	1.80	1.81
12	2.03	1.98	2.01	2.37	2.34	2.35
13	3.65	3.56	3.61	4.05	4.09	4.07
14	9.97	10.05	10.01	10.85	10.70	10.78
15	6.88	6.75	6.82	7.28	7.28	7.28
16	7.19	7.28	7.24	7.73	7.76	7.75
23	1.09	0.94	1.02	1.01	1.01	1.01
24	2.43	2.09	2.26	2.34	2.34	2.34
25	1.20	0.97	1.09	1.28	1.29	1.29
26	0.64	0.46	0.55	1.04	1.06	1.05
27	2.28	1.94	2.11	2.21	2.25	2.23
28	0.24	0.17	0.21	0.66	0.07	0.36
29	0.19	0.10	0.15	0.44	0.41	0.42
30	2.11	2.05	2.08	2.18	2.37	2.27
31	6.16	5.98	6.07	6.27	6.51	6.39
32	9.33	8.85	9.09	9.61	9.97	9.79
33	6.80	6.30	6.55	6.96	6.94	6.95
34	6.87	6.42	6.65	7.15	7.13	7.14
gemiddelde =			4.27			4.66
n =	28					
richting =	0.9714		x = titratiemethode			
snijpunt =	-0.2606		y = SFA			
correlatie =	0.9992					

grond 1:2 extract						
nummer	SFA methode			titratie methode		
	enk	dup	gem	enk	dup	gem
17	0.36	0.38	0.37	0.56	0.63	0.60
18	0.47	0.49	0.48	0.68	0.66	0.67
19	0.40	0.40	0.40	0.65	0.64	0.65
20	0.44	0.44	0.44	0.61	0.66	0.64
21	0.34	0.34	0.34	0.58	0.58	0.58
22	0.31	0.31	0.31	0.49	0.49	0.49
35	0.21	0.21	0.21	0.51	0.49	0.50
36	0.57	0.57	0.57	0.79	0.81	0.80
37	0.44	0.46	0.45	0.66	0.71	0.69
38	0.62	0.63	0.63	0.83	0.87	0.85
39	0.46	0.46	0.46	0.65	0.71	0.68
40	0.50	0.50	0.50	0.71	0.75	0.73
41	0.57	0.57	0.57	0.81	0.78	0.80
gemiddelde =			0.44			0.67
n =	14					
richting =	1.0220		x = titratiemethode			
snijpunt =	-0.2399		y = SFA			
correlatie =	0.9723					

Bijlage 4. Voorlopig voorschrift bepaling

Toepassing

Dit voorschrift is van toepassing op alle soorten waterige oplossingen en extracten van grond, gewas en substraten.

Reagentia

Zwavelzuur, 0,5 mol l⁻¹

- voeg 14,0 ml H₂SO₄ 96% pa. toe aan 600 ml water. Vul aan tot 1 l met water en meng goed. Voeg 3 ml 10% oplossing Triton X-100 toe en meng goed.

Bufferoplossing, CO₃/HCO₃ pH 10,0

- los 2,65 g NaCO₃ pa. en 2,10 g NaHCO₃ op in 100 ml water. Gebruik CO₂-vrij water en sluit de fles goed af. Deze oplossing bewaard bij 4°C is twee weken houdbaar.

Fenolftaleïne-oplossing, 1% in ethanol

- los 1,00 g fenolftaleïne pa. op in 99 ml ethanol absoluut 96%. Deze oplossing bewaard bij 4°C is een half jaar houdbaar.

Kleurreagens

- pipetteer 1,50 ml bufferoplossing en 2,00 ml fenolftaleïne-oplossing in een maatkolf van 1 l, vul aan met water en meng goed. Voeg 2 ml 10% oplossing Triton X-100 toe en meng goed. Deze oplossing 12 uur voor aanvang van de analyses klaar maken en in een goed afgesloten fles bewaren.

Natronloog, 6 mol l⁻¹

- los 60 g NaOH pa op in 250 ml water.

Hoofdstandaardoplossing bicarbonaat, 100 mmol HCO₃ l⁻¹

- los 8,401 g NaHCO₃ pa op in een maatkolf van 1 l. Meng goed.

Standaardreeks, 1,0 – 2,0 – 3,0 – 4,0 – 5,0 mmol HCO₃ l⁻¹

- 1,0 mmol HCO₃ l⁻¹ pipetteer 1,00 ml hoofdstandaardoplossing in een maatkolf van 100 ml. Vul aan met water en meng goed.
- 2,0 mmol HCO₃ l⁻¹ pipetteer 2,00 ml idem
- 3,0 mmol HCO₃ l⁻¹ pipetteer 3,00 ml idem
- 4,0 mmol HCO₃ l⁻¹ pipetteer 4,00 ml idem
- 5,0 mmol HCO₃ l⁻¹ pipetteer 5,00 ml idem

Apparatuur

- Segmented flow autoanalyse systeem met componenten:
 - monsterwisselaar SA 1000
 - module met configuratie voor bicarbonaat bepaling type 185-312
 - peristaltische pomp SA 2005
 - fotometer SA 6250
 - fotometerkop SA 6200 met flowcel 6425 en filter 550 nm
 - pc met printer
 - software Skalar San-plus

Bijlage 4. Vervolg voorlopig voorschrift

Werkwijze

Voorbehandeling monsters

- filtreer de oplossingen of extracten volgens voorschrift.

Meetmethode

- start het analysesysteem volgens de bijbehorende handleiding.
- wacht tot een regelmatig belvenpatroon ontstaat en de basislijn stabiel blijft.
- start de pc met de datasoftware volgens de bijbehorende handleiding.
- selecteer de methode bicarbonaat en vul het schema standaarden en monsters in
- vul de cupjes en plaats deze in de monsterwisselaar volgens het voorgaand opgemaakt schema.
- stel het aantal te meten cupjes in op de monsterwisselaar.
- start het programma op de pc.
- controleer nogmaals de stabiliteit van de basislijn en start de monsterwisselaar.
- de verkregen resultaten staan direct uitgedrukt in $\text{mmol HCO}_3^- \text{ l}^{-1}$.
- spoel na het beëindigen van de metingen het systeem een half uur na met water.

Berekening

$$X = (A-B) \times F$$

waarin: X = bicarbonaatgehalte in het monster in mmol l^{-1}

A = bicarbonaatgehalte in de meetoplossing in mmol l^{-1}

B = bicarbonaatgehalte in de blanco in mmol l^{-1}

F = verdunningsfactor (= 1)

Schema module

