Bibliotheek
Proefstation
Naaldwijk
A
2
E
23

STICHTING PROEFSTATION VOOR TUINBOUW ONDER GLAS

BIBLIOTHEEK
PROEFSTATION VOOR TUINBOUW
ONDER GLAS TE NAALDWIJK

Onderzoek naar additieven aan steenwolmatten

C.W. van Elderen

Naaldwijk, juni 1985 Intern verslag nr: 33

2217353

Inhoudsopgave

	pagina
1. Inleiding	1
2. Onderzoek	1
2.1. Monstervoorbereiding	1
2.2. Vloeistofchromatografie	2
2.3. Spektrofotometrische bepaling van formaldehyde	10
3. Samenvatting en konklusie	13
4. Literatuur	13
Bijlagen 1 tot en met 6	

1. Inleiding

Begin 1985 zijn groeistoornissen opgetreden bij aubergine en paprika geteeld in steenwol, van het merk Cultura. Het vermoeden bestond dat de ziekteverschijnselen veroorzaakt werden door één of meerdere stoffen afkomstig uit de matten. Bij de fabrikage van steenwol worden namelijk verscheidene stoffen gebruikt, die mogelijkerwijs schade kunnen veroorzaken. In de eerste plaats is er de organische binder. De binder bevat 55% fenolische hars, 45% ureum en 0,2% silaan. De fenolische hars een wateroplosbare resol is het polymerisatieprodukt van fenol en formaldehyde (Fieser, 1952). De overmaat formaldehyde wordt weggenomen met ureum. Bij verhitting van de fenolische hars ontstaat een driedimensionale bakelietstruktuur, die chemisch gezien zeer stabiel is. Silaan wordt toegevoegd als koppelingsreagens tussen de organische binder en de anorganische minerale vezels. In de matten wordt 2,5 à 3% bindmiddel van ongeveer bovenstaande samenstelling gedoseerd. Het gebruik van dit bindmiddel geeft dus direkt aanleiding tot introduktie van vier vreemde stoffen in de mat, nog afgezien van alle mogelijke gesubstitueerde mono- of polyaromaten afkomstig van de resol.
In de tweede plaats zijn er de detergenten die toegevoegd worden om de wateropname van de mat mogelijk te maken. De toegevoegde hoeveelheid is volgens opgave van de fabrikant ca. 3 gram per kg steenwol. Ook voor de detergenten geldt dat er een zeer breed scala aan verbindingen mogelijk is, hoewel de samenstelling van de te onderzoeken matten, toegevoegde detergent grotendeels bekend is namelijk: RO $(CH_2\text{-}CH_2O)_n$-H waarbij $n = \pm 6$.
Door vergelijking van een viertal matten 1x Basalan, 1x Grodan PL en 2x Cultura is getracht inzicht te krijgen in de mogelijke verschillen in samenstelling. Hiertoe zijn van extrakten, van de matten "fingerprint" opnamen gemaakt met behulp van Hoge Prestatie Vloeistof Chromatografie (HPLC). Naar aanleiding van deze opnamen is hiervan een deelgebied nader onderzocht met een aangepaste HPLC-methode. Een nadeel van de toegepaste HPLC-methoden is, dat formaldehyde en ureum niet aantoonbaar zijn. Als één van de verdachte verbindingen is formaldehyde spektrofotometrisch bepaald. Een voorschrift voor deze bepaling is opgenomen in bijlage 6.

2. Onderzoek

2.1. Monstervoorbereiding

Van vier verschillende merken steenwolmat (zie tabel 1) zijn submonsters genomen met behulp van een cylinderboor. Het volume van het verkregen submonster is dan ongeveer 46 cm^3.

monsterkodering	omschrijving
GPL	goed
C1	extra binder, veel silaan toegevoegd
C3	weinig binder, geen silaan toegevoegd
BAS	detergent alleen aan buitenkant aangebracht

Tabel 1. Monsterkodering en probleemomschrijving.

Van deze submonsters is een water extrakt gemaakt. Hiertoe is aan elk submonster 35 ml ged. H_2O toegevoegd (75% van de maximale waterkapaciteit). Na een week bewaren in een afgesloten fles is het extrakt verzameld door mechanisch uitpersen met behulp van de luchtpers. De extrakten zijn hierna gefiltreerd over Whatman no 540.

2.2. Vloeistofchromatografie

Met behulp van HPLC is een snelle screeningsmethode van sporen organische stoffen en anorganische ionen mogelijk (Staal, 1983). Bij de zogenaamde "fingerprint" techniek worden de opnamen van de gescheiden stoffen met elkaar vergeleken. Omdat in de extrakten verbindingen verwacht kunnen worden met een zeer hoge polariteit (zuren) en een zeer lage polariteit (polycylische koolwaterstoffen) is gradiëntelutie noodzakelijk. Door het grote polariteitsverschil is het namelijk niet mogelijk met één type loopvloeistof alle verbindingen van de kolom te elueren. Dit wordt verkregen door in een bepaald tijdsbestek de loopvloeistof water geleidelijk te vervangen door acetonitril, waarbij alle tussenliggende mengverhoudingen doorlopen worden. Door deze veranderende mengverhouding te leiden over een apolaire kolom wordt een scheiding naar polariteit en oplosbaarheid verkregen. Hierbij hebben zuren een grote voorkeur voor de waterfase ten opzichte van de apolaire kolom en zullen dus zeer snel elueren. De aromatische verbindingen zullen slechts met zeer hoge percentages acetonitril van de kolom af zijn te krijgen, waardoor ze veel later elueren.
De detektie bij de fingerprint techniek wordt uitgevoerd met de UV-detektor. Met deze detektor kan ca. 80% van de oplosbare organische stoffen aangetoond worden, omdat de overige 20% van de verbindingen geen UV-absorptie vertonen. Kwantificering van de aantoonbare stoffen is mogelijk, maar is niet uitgevoerd omdat dit niet paste in het oriënterend karakter van het uitgevoerde onderzoek. De fingerprint opnamen van de extrakten zijn gemaakt met vier detektorkanalen. De gegevens over de screenmethode zijn opgegeven in tabel 2 en de chromatogrammen van de extrakten zijn opgenomen in de bijlagen 1 tot en met 4.

injektie	- 100 ul extrakt		
gradiënt	- 100% water naar 100% acetonitril in 50 min. lineair		
kolom	- 2x Novapak C18; 4 um; 3,9 mm id; 15 cm; RVS		
flow snelheid	- 1 ml/min		
detektie	- kanaal 1 -	UV	- λ = 214 nm
	- kanaal 2 -	UV	- λ = 229 nm
	- kanaal 3 -	UV	- λ = 254 nm
	- kanaal 4 -	fluorescentie	- λ = 254 nm excitatie
			- λ = 375 nm emissie

Tabel 2. Gegevensoverzicht van de toegepaste screenmethode.

De opnamen kunnen ruwweg in vier gedeelten opgesplitst worden over de tijd-as volgens tabel 3.

elutietijd (minuten)	mogelijke verbindingen
0 - 10	ionogene deeltjes, organische zuren
10 - 30	matig polaire koolwaterstoffen
30 - 40	gesubstitueerde benzenen
40 - 60	polycyclische koolwaterstoffen

Tabel 3. Overzicht van de elutietijden van enige klassen van verbindingen.

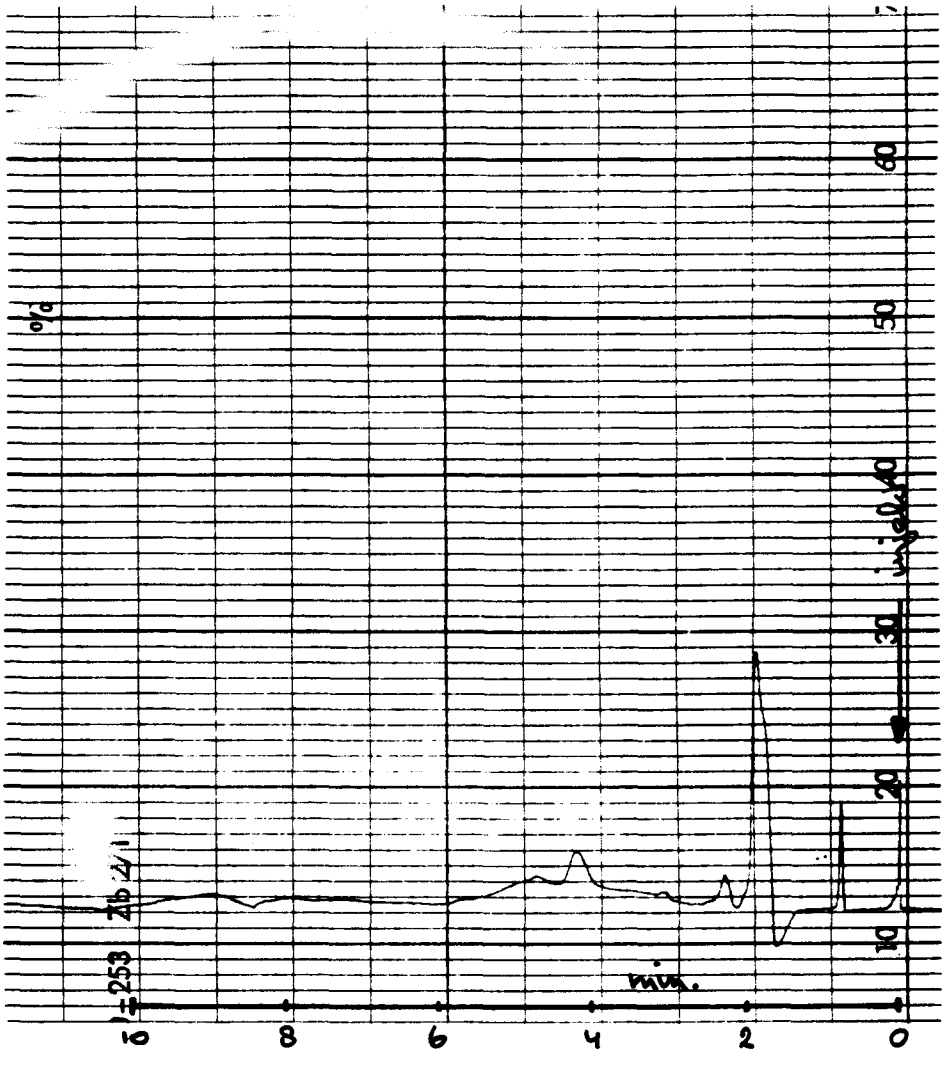
De opnamen van de extrakten geven voornamelijk twee groepen van pieken te zien. Tussen de 2 en 5 minuten en tussen de 10 en 15 minuten. Na 15 minuten geven de opnamen alleen nog kleinere pieken te zien. In een aantal gevallen zijn in de opnamen pieken benoemd, volgens een standaardoplossing (bijlage 5). De waarde hiervan is echter gering, omdat de koncentraties van de benoemde stoffen niet bekend zijn. Opvallend is wel dat in het GPL-extrakt, een goede mat, meer pieken gevonden worden. Vooral de piek bij ca. 48 minuten valt op, deze is waarschijnlijk afkomstig van de toegevoegde detergent. Dit gezien de samengestelde vorm van de piek, die wijst op een analoge reeks van verbindingen. De grootste verschillen tussen de opnamen van de extrakten worden gevonden in het groepje pieken tussen de 2 en 5 minuten. De snelheid waarmee deze stoffen elueren geeft aan dat het hier ionogene stoffen of kleine organische zuren betreft, die zeer goed wateroplosbaar zijn. De chromatogrammen geven een enigszins vertekend beeld omdat de mV-schaal (y-as) steeds zodanig aangepast wordt dat de hoogste piek volledig op papier valt. Zo blijkt voor kanaal 1 de schaalverdeling voor GPL ca 70 mV te bedragen tegen ca 800 mV voor Cl. Dit betekent dat dezelfde komponent in de eerste groep pieken ongeveer een faktor 10 verschilt in koncentratie voor GPL en Cl. Dit dermate grote verschil is de aanleiding geweest voor nader onderzoek naar de komponenten uit de eerste groep. Hiertoe zijn de meetomstandigheden veranderd volgens de gegevens van tabel 4.

injektie	- 20 ul extrakt
mobiele fase	- 100% water
kolom	- uBondapak C18; 10 um; 3,9 mm id; 30 cm; RVS
flow snelheid	- 1,5 ml/min
detektie	- UV - λ = 214 nm

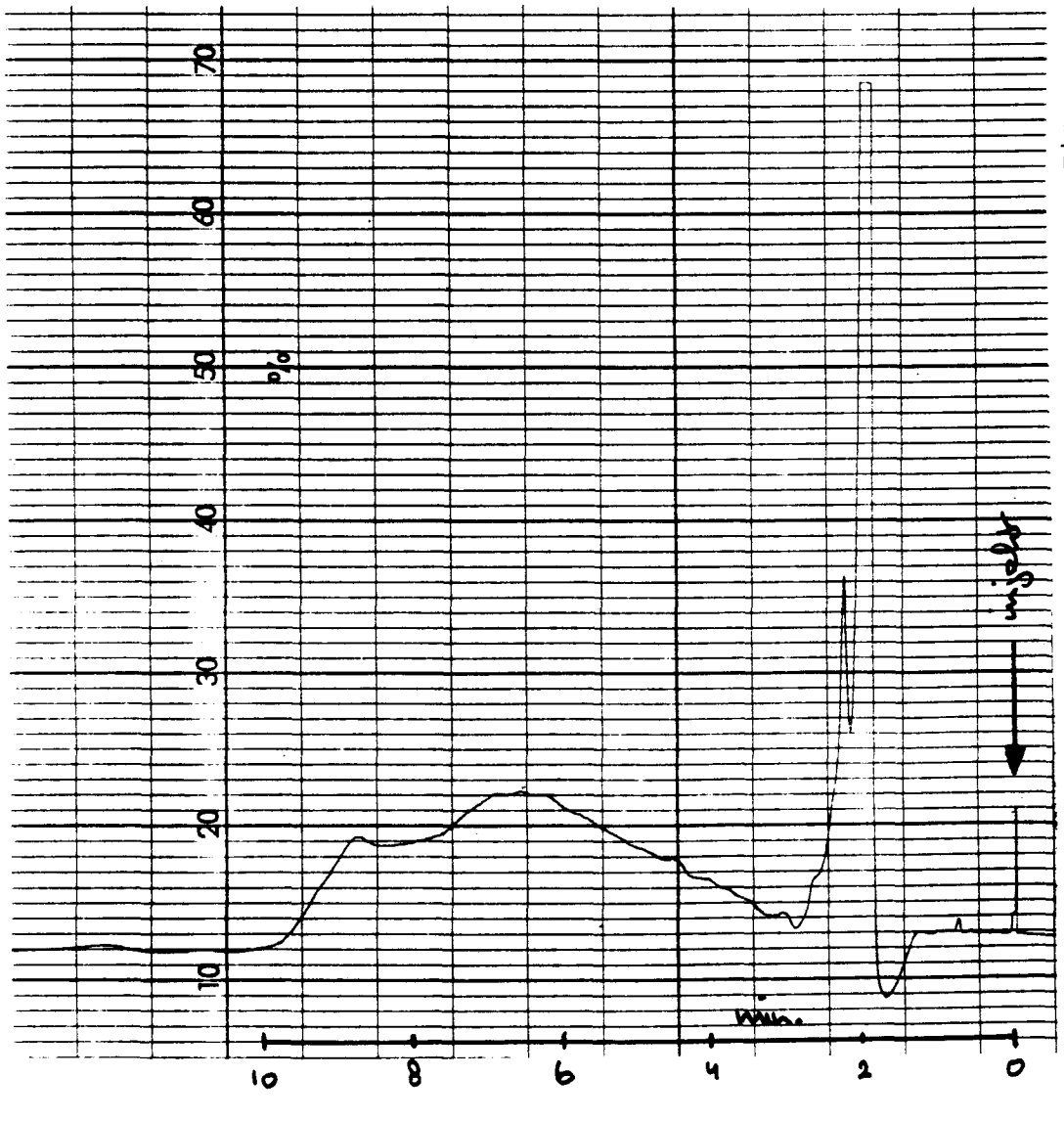
Tabel 4. Gegevensoverzicht van de toegepaste meetmethode voor de bepaling van de groep komponenten met minder dan 5 minuten elutietijd.

De chromatogrammen 1 tot en met 4 tonen de resultaten van de injektie van de extrakten. De chromatogrammen geven een vrij onduidelijk beeld te zien waarin maar enkele pieken direkt als een komponent zijn te herkennen. Eén hiervan is de op elk chromatogram voorkomende piek, elutietijd ca. 2 minuten, afkomstig van nitraat. Benoeming van de overige pieken is vrijwel onmogelijk. Dit zijn waarschijnlijk pyrolyseprodukten die ontstaan bij verhitting van de resol. Duidelijk is wel dat deze verbindingen niet in de onbehandelde binder voorkomen (chromatogram 9). De toegepaste verdunning van de binder (400x) komt overeen met

de mogelijke koncentratie in de extrakten uitgaande van een 2,5% toevoeging bij de fabrikage van de mat. De eerste duidelijke piek in de binder wordt gevonden op ca 9 minuten, daarna volgt een reeks verbindingen waarvan de piek op 14,5 minuten geïdentificeerd is als fenol. De extrakten geven na 10 minuten geen enkele piek meer te zien. Twijfelachtig is af de komponent op 9 minuten die ook bij C1 en C3 voorkomt dezelfde is als in de binder. Het gekonstateerde grote verschil in de fingerprint opnamen lijkt dus vrijwel zeker veroorzaakt te worden door nitraat, dat ook in hoge koncentraties in voedingsoplossingen voorkomt (chromatogram 7 en 8).
Derhalve kan gesteld worden, dat met de gevolgde HPLC-methoden, geen duidelijk beeld gevormd kan worden over het wel of niet voorkomen van, voor het gewas, schadelijke komponenten in de steenwolmat. Twee komponenten uit de binder zijn met de gevolgde HPLC-methode niet detekteerbaar, te weten ureum en formaldehyde (chromatogram 6). Van deze twee is formaldehyde, als meest verdachte stof, spektrofotometrisch bepaald.

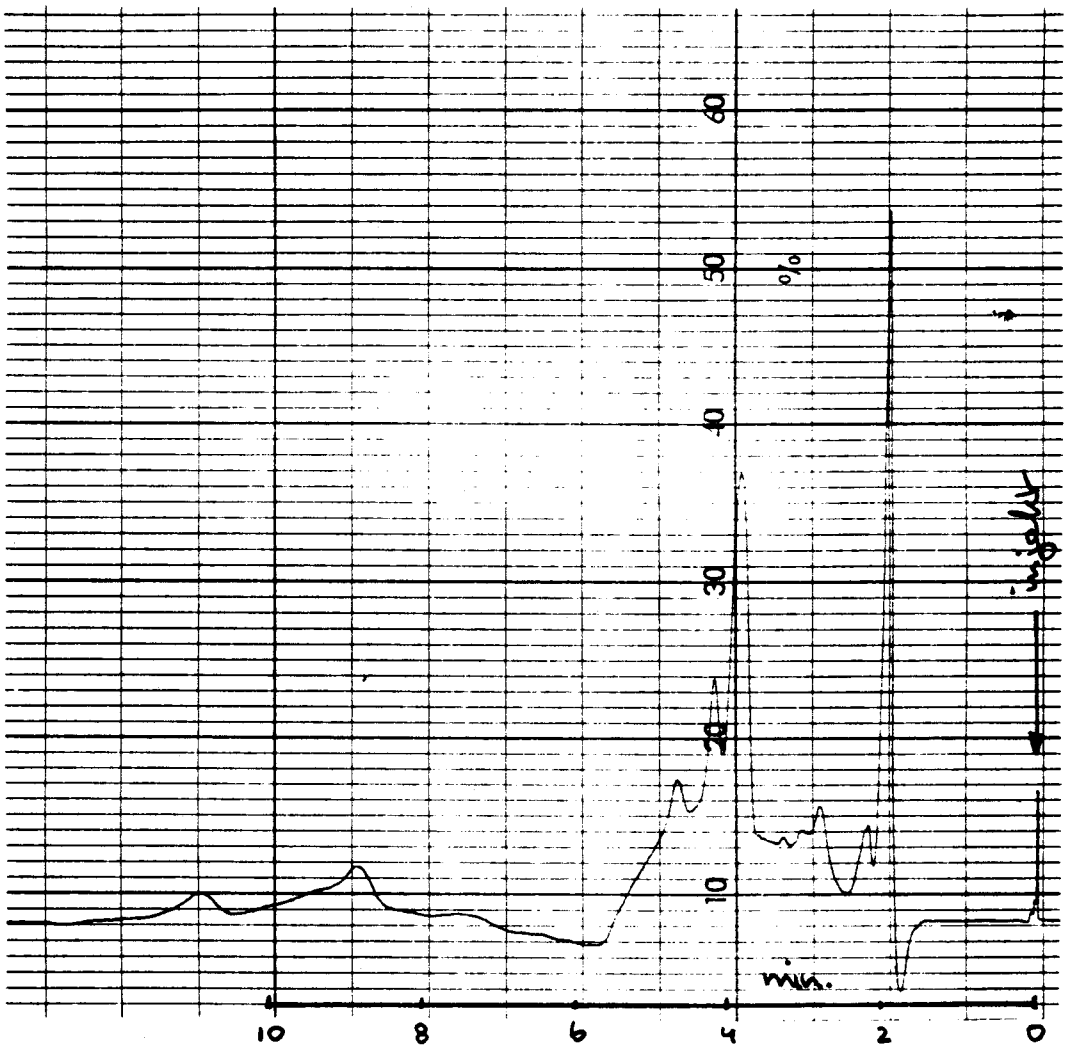


Chromatogram 1
GPL-H_2O
0.02 AUFS
20 mV
10 mm/min

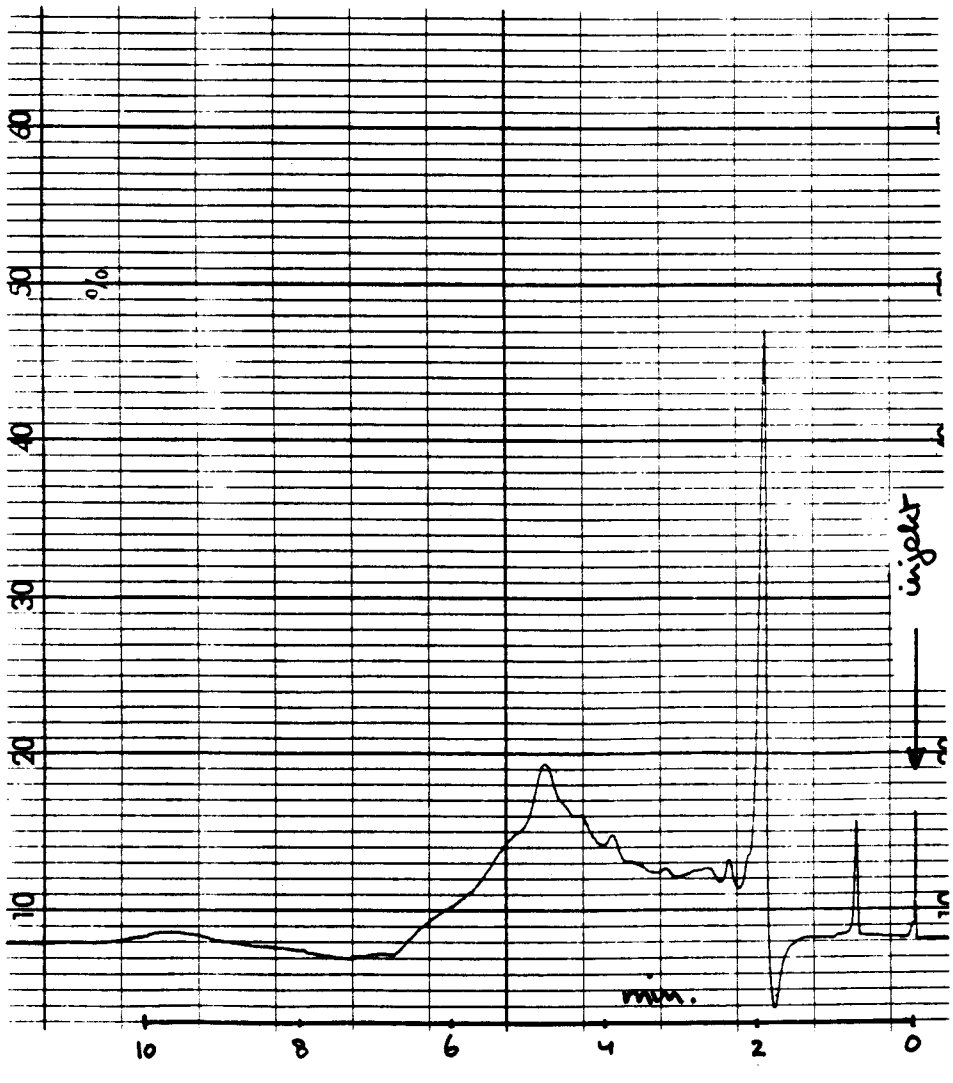


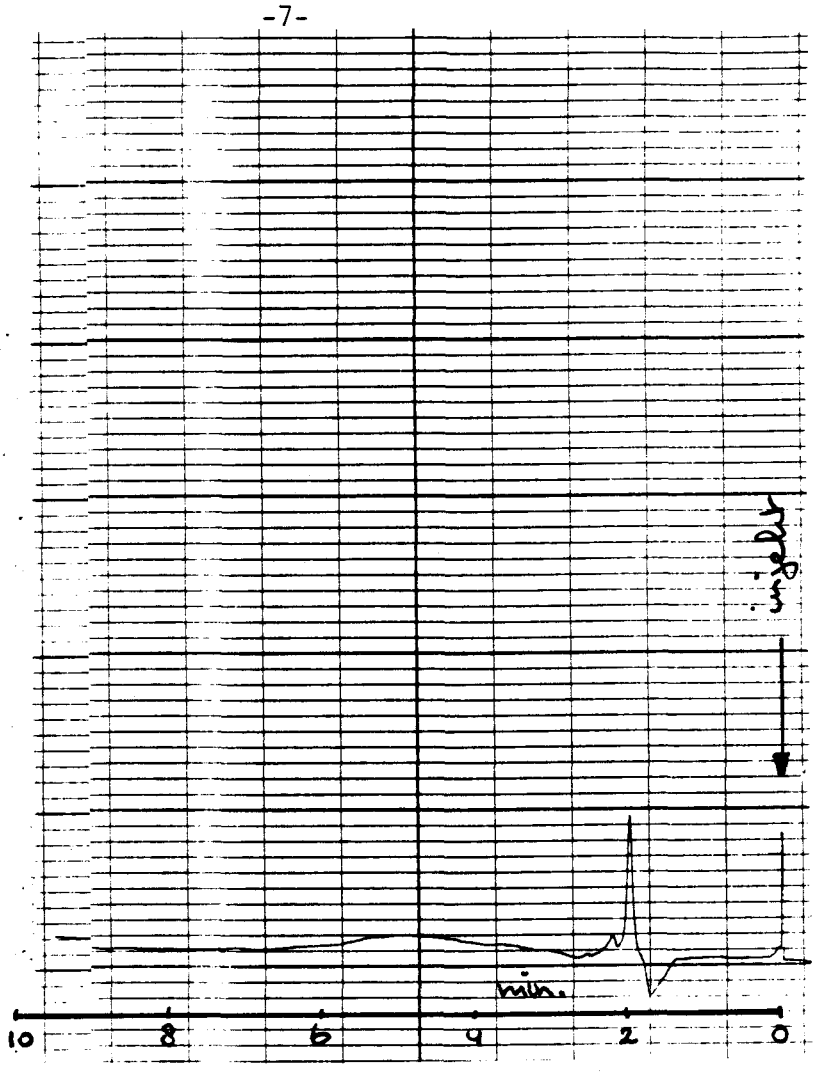
Chromatogram 2
C 1 -H_2O

Chromatogram 3
C 3 - H_2O

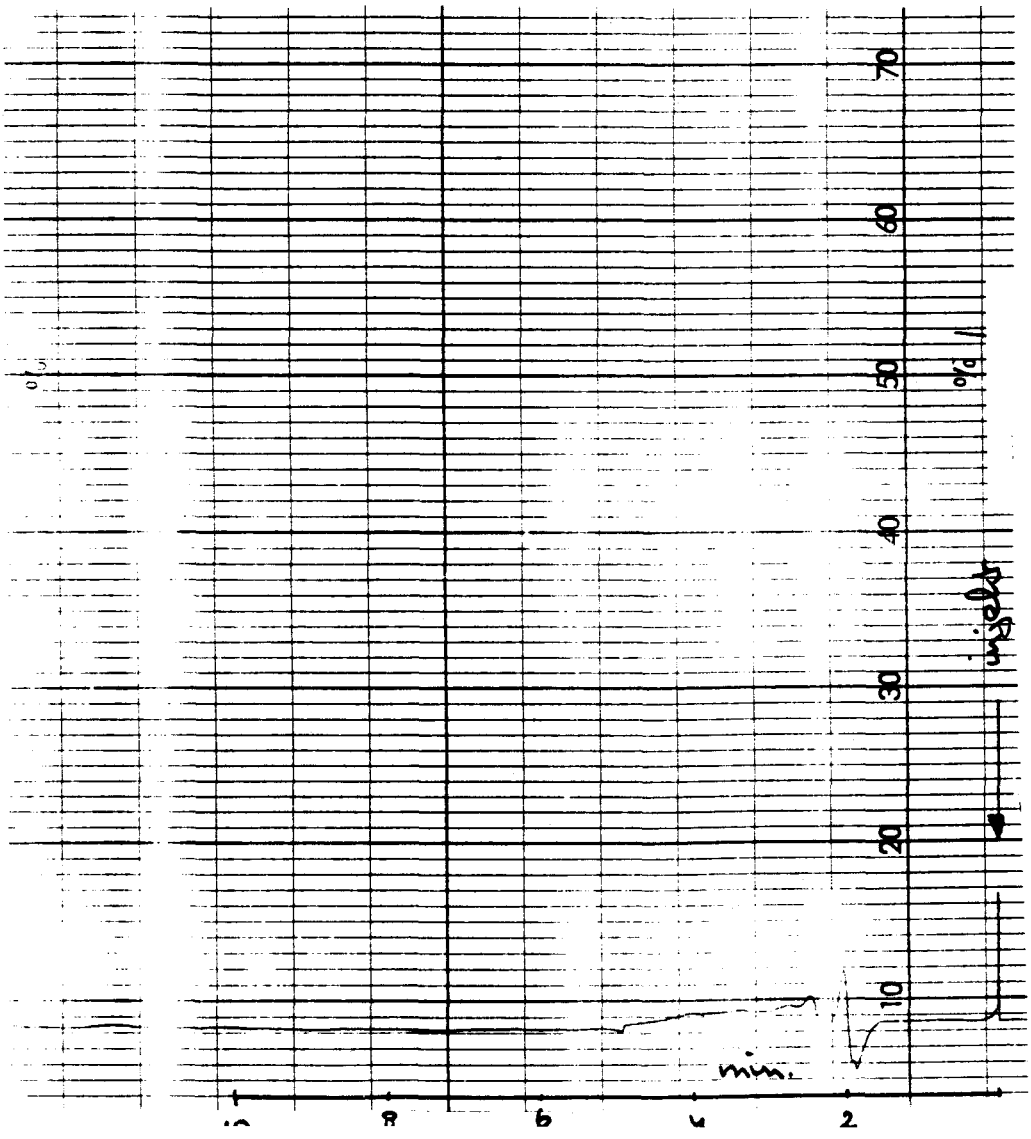


Chromatogram 4
BAS - H_2O

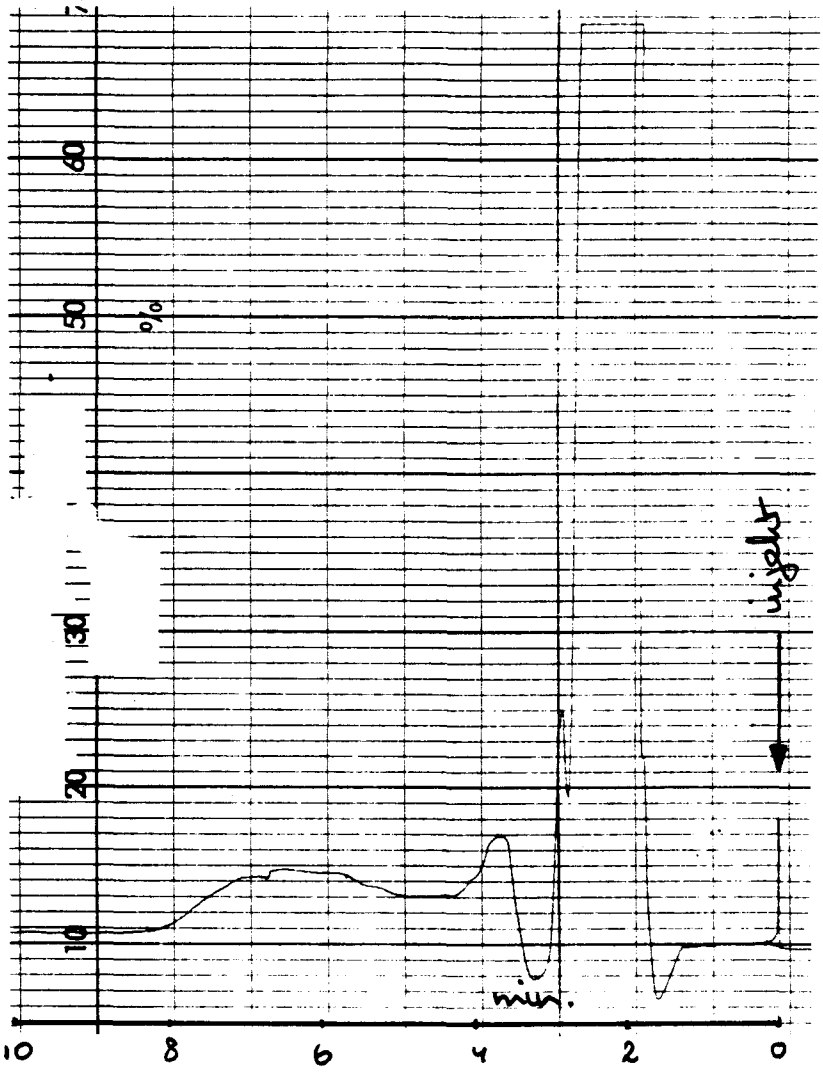




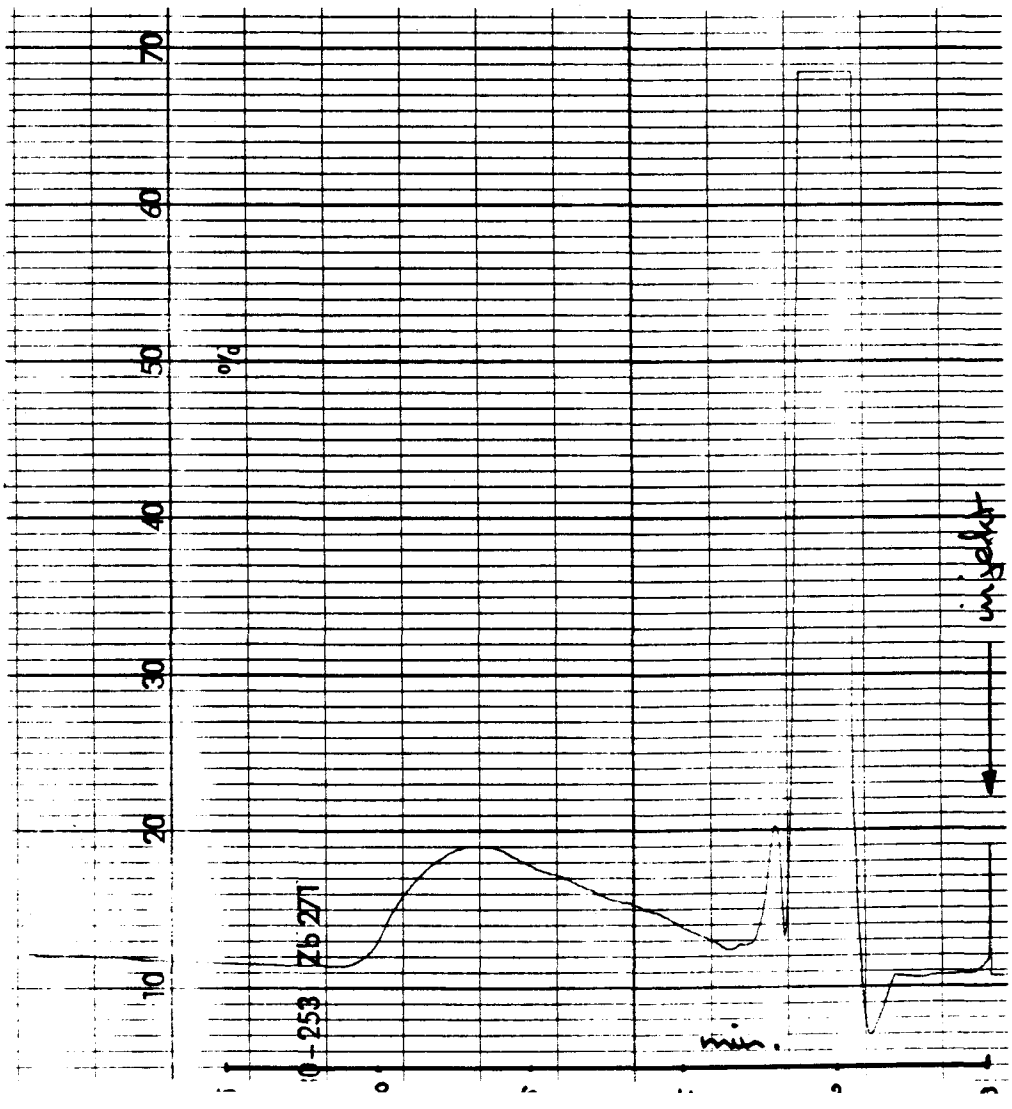
Chromatogram 5
Blanko - ged. H_2O



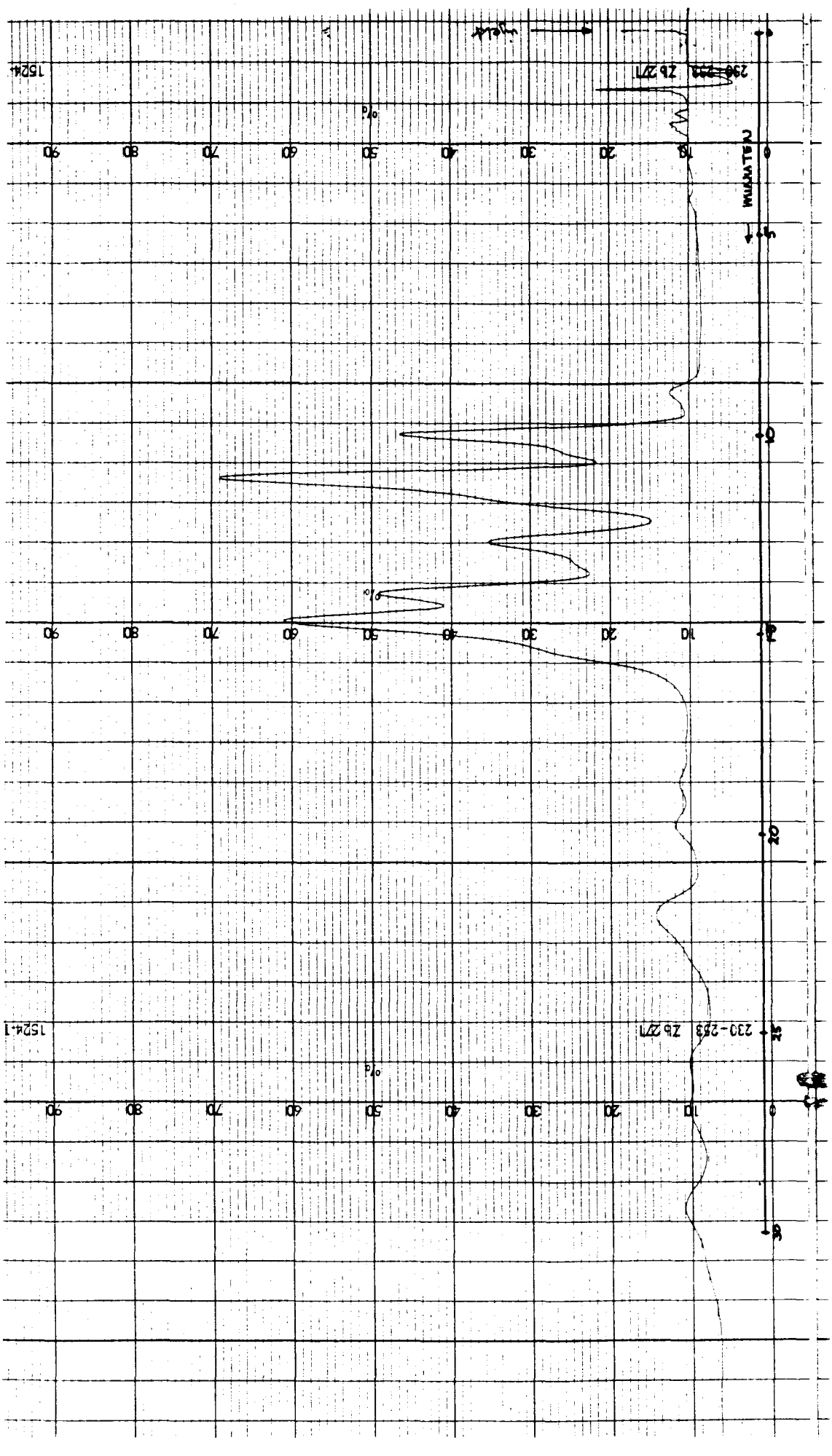
Chromatogram 6
Formaldehyde
50 mg/l



Chromatogram 7
Voedingsopl.
slecht



Chromatogram 8
Voedingopl.
goed



Chromatogram 9
Binder
400 x verd.

2.3. Spektrofotometrische bepaling van formaldehyde

Voor de bepaling van formaldehyde is gekozen voor de chromotroopzuurmethode (Keyzer, 1980). Deze methode berust op de reaktie van chromotroopzuur met formaldehyde bij verwarming (100°C waterbad) in gekoncentreerd zwavelzuur milieu. Hierbij ontstaat een paars gekleurd komplex dat enkele uren stabiel is. De kleurintensiteit wordt spektrofotometrisch gemeten bij een golflengte van 562 nm waarbij het gevormde komplex maximale absorptie vertoont (figuur 1). De methode is specifiek voor formaldehyde en geeft geen reaktie met alifatische of aromatische aldehyden.
Een reeks standaardoplossingen is bereid volgens het analyse voorschrift (bijlage 6). Tussen de koncentraties 0,5 tot 7,5 mg formaldehyde per liter, en de absorpties blijkt een lineair verband te bestaan (figuur 2). In de waterige extrakten als bereidt onder punt 2.1. is direkt formaldehyde bepaald volgens het analysevoorschrift. De resultaten zijn opgegeven in tabel 5. De toegepaste omrekeningsfaktor van mg/l naar mg/kg via het volumegewicht van de mat is: $\frac{35 * 1000}{46 * \text{volume gewicht}}$

monster	mg CH_2O/l in het extr.	mg CH_2O/kg in de mat	vol.gew.mat g/dm3
GPL	0.89	10	70
C 1	8,03	77	80
C 3	6,32	61	80
BAS	0,61	5	90

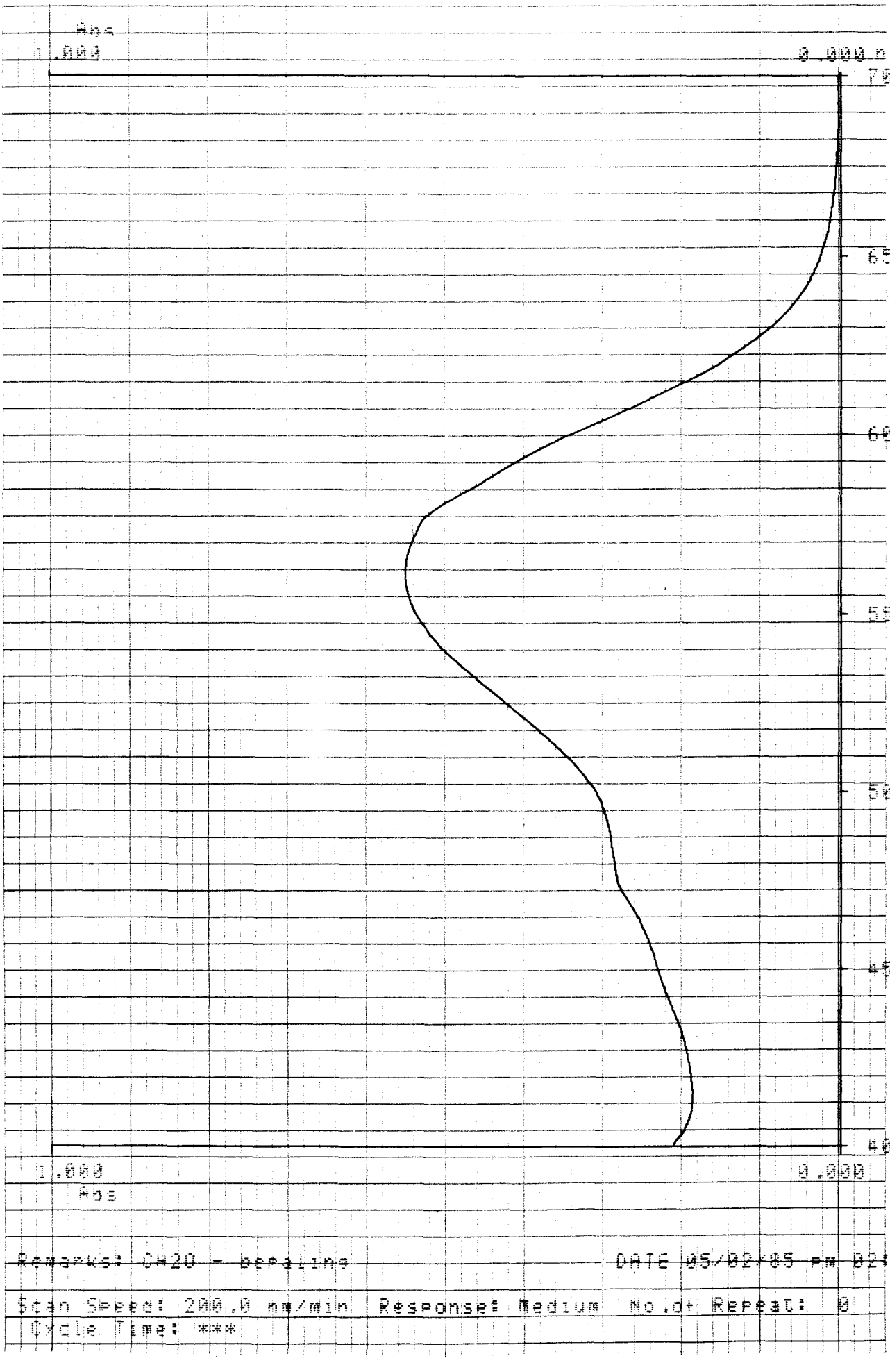
Tabel 5 Formaldehydegehalten uitgedrukt in mg/l extrakt en in mg/kg mat en het volume gewicht van de monsters.

Uit deze resultaten blijkt dat de koncentraties formaldehyde in C1 en C3 veel hoger zijn dan in GPL en BAS. Dit zou er op kunnen wijzen dat de problemen veroorzaakt worden door formaldehyde. Het niveau van de giftigheid van formaldehyde zal proefondervindelijk wellicht door een planttoets moeten worden vastgesteld.
Nagegaan is of het gegeven analysevoorschrift toepasbaar is voor voedingsoplossingen. Hiertoe is een vers bereide oplossing en een oplossing waar zich problemen hebben voorgedaan volgens voorschrift gemeten (tabel 6).

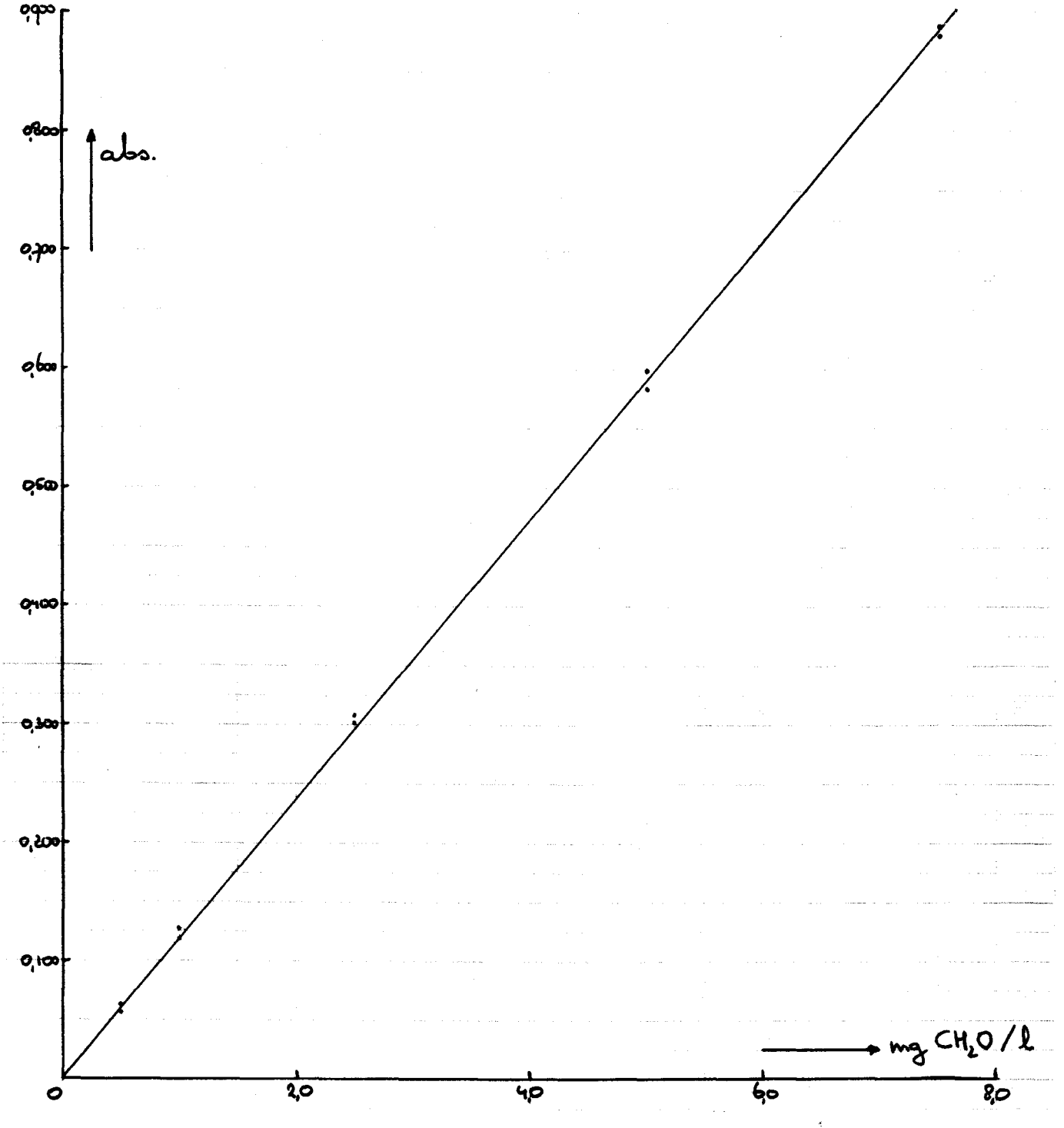
monster	mg CH_2O/l
voedingsoplossing vers	1,48
voedingsoplossing slecht	2,42

Tabel 6 Formaldehydegehalten uitgedrukt in mg/l in voedingsoplossingen.

De bepaling bleek gestoord te worden door het ontstaan van een oranje-gele miskleur. Dit is ook de verklaring voor het schijnbare gehalte formaldehyde in de vers bereide voedingsoplossing. Wanneer deze oplossing als blanko genomen wordt, zou de koncentratie formaldehyde in de slechte voedingsoplossing ongeveer 1 mg per liter zijn. Het probleem van de miskleur is waarschijnlijk te korrigeren door het toepassen van standaardadditie, zodat het mogelijk is formaldehyde in voedingsoplossingen te bepalen. Onderzoek hiernaar is voorlopig uitgesteld in afwachting van een eventuele voortzetting door de betrokken onderzoeker.



Figuur 1 Absorptiecurve van het chromotroopzuur/formaldehyde komplex



Figuur 2 Ykcurve van de formaldehyde bepaling volgens de chromotroopzuur-methode

3. Samenvatting en konklusie

Naar aanleiding van het optreden van groei-afwijkingen bij aubergine en paprika geteeld op Cultura steenwolmatten is onderzoek verricht naar additieven aan die matten. Hierbij is gebruik gemaakt van "fingerprint" opnamen met behulp van HPLC-apparatuur. De opnamen van vier verschillende matten zijn met elkaar vergeleken en een gedeelte van de opnamen is nader onderzocht met een aangepaste HPLC-methode. Dit onderzoek heeft uitgewezen dat het grote verschil in de fingerprint opnamen vermoedelijk wordt veroorzaakt door nitraat. Met de aangepaste HPLC-methode is tevens aangetoont dat de organische binder geheel is omgezet bij de fabrikage. De chromatogrammen van de extrakten gaven verder een klein aantal piekjes te zien waarvan de komponent niet te achterhalen is. Uit het bovenstaande kan gekonkludeerd worden dat met de toegepaste HPLC-methoden niet direkt een goede en een slechte steenwolmat, wat betreft de chemische samenstelling van elkaar onderscheiden kunnen worden.
Als verdachte verbinding is formaldehyde, dat met de HPLC-methoden niet aantoonbaar is, spektrofotometrisch bepaald volgens de chromotroopzuur-methode. Uit dit onderzoek blijkt de formaldehyde koncentratie in een goede mat 10 mg/kg te bedragen tegen 77 mg/kg in een "slechte" mat. Dit grote verschil is een aanwijzing dat de problemen mogelijk veroorzaakt werden door formaldehyde. De schadelijkheid van formaldehyde voor de betreffende gewassen zal proefondervindelijk vastgesteld moeten worden. Een definitieve uitspraak omtrent de beoordeling van een steenwolmat aan de hand van de gevonden formaldehyde koncentratie is derhalve nog niet mogelijk.

4. Literatuur

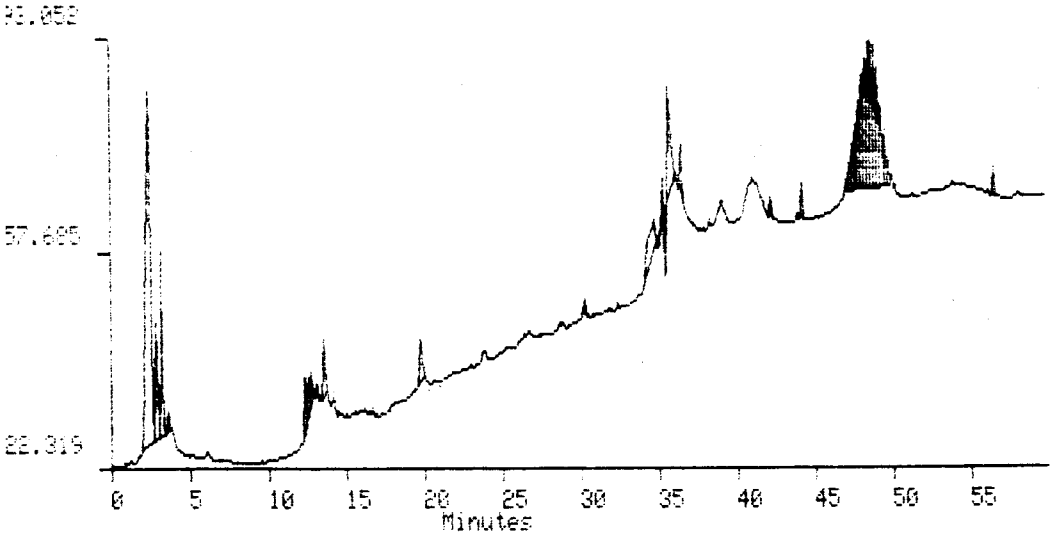
1. Fieser L.F. and M. Fieser Organic Chemistry, second edition.1952. Uitgever: Heath. Boston. p. 957-962.
2. Keyzer W.F. Bepalen van formaldehyde in lucht.1980. Werkdokument Rijksdienst voor de IJsselmeerpolders.
3. Staal W.J. Bodem- Water- en Luchtverontreiniging.1983. Last Minute Info no.47. Millipore-Waters.

Note:

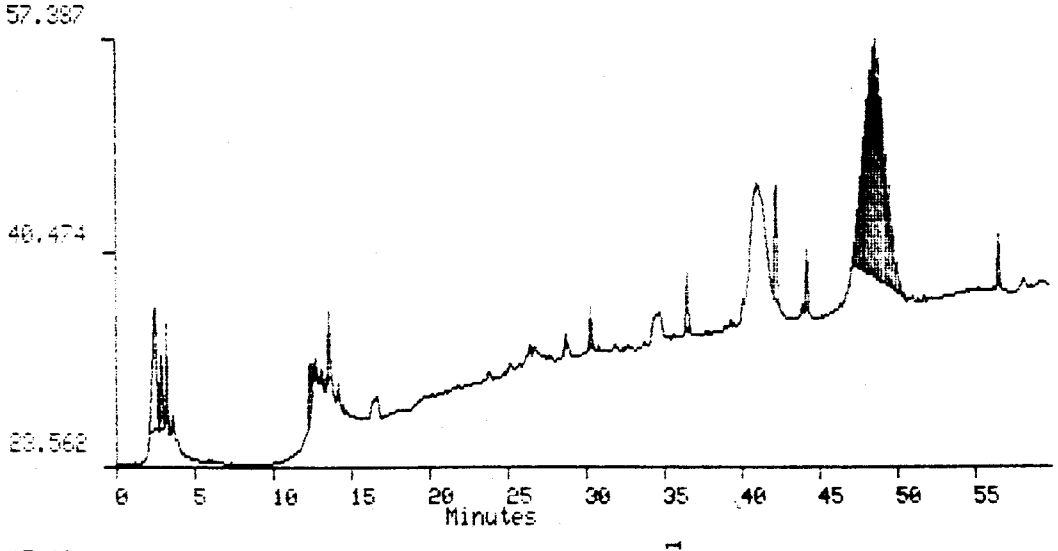
Voor de uitvoering van dit onderzoek, met name de fingerprint opnamen, kon gebruik worden gemaakt van apparatuur en kennis van de firma Millipore te Etten-Leur.

Bijlage 1 GPL H_2O

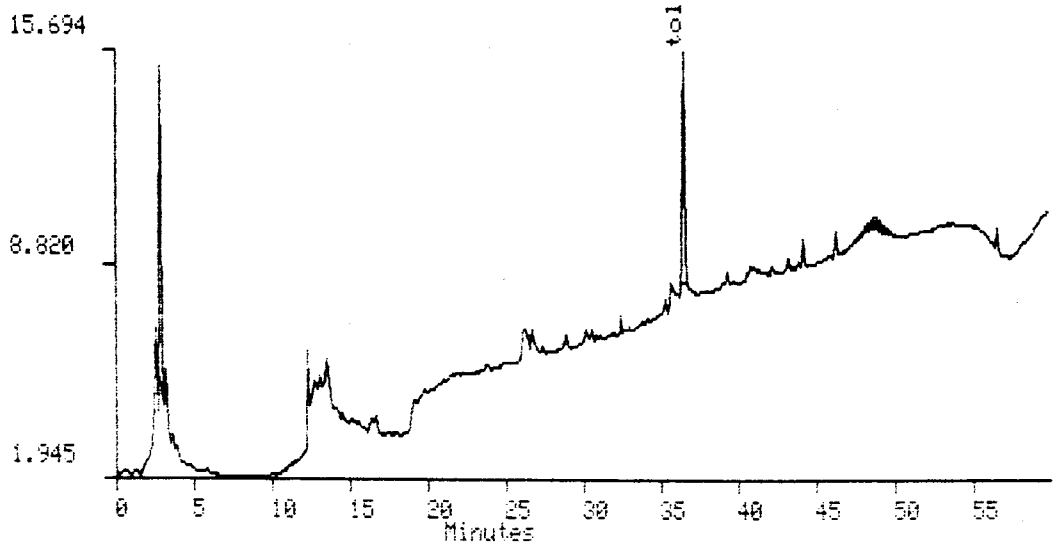
kan 1



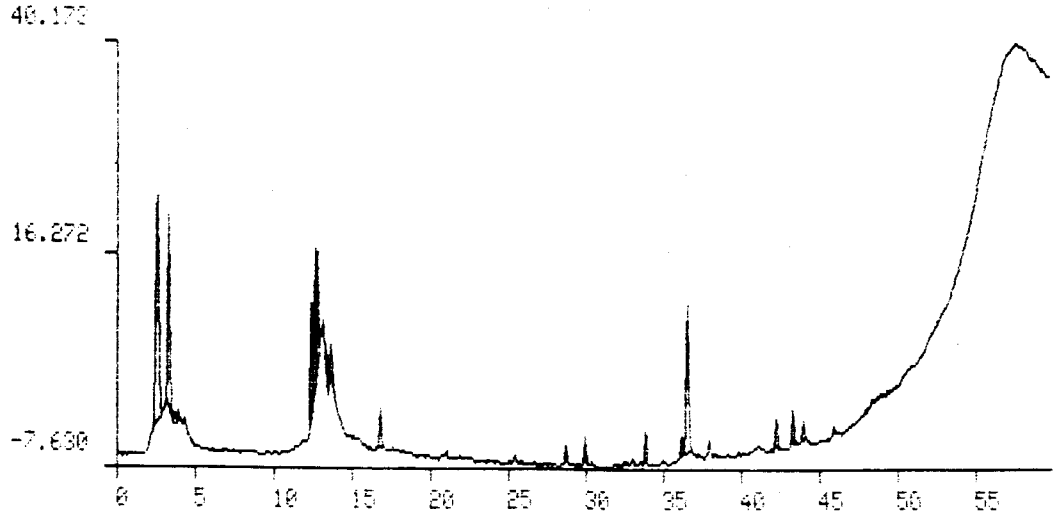
kan 2



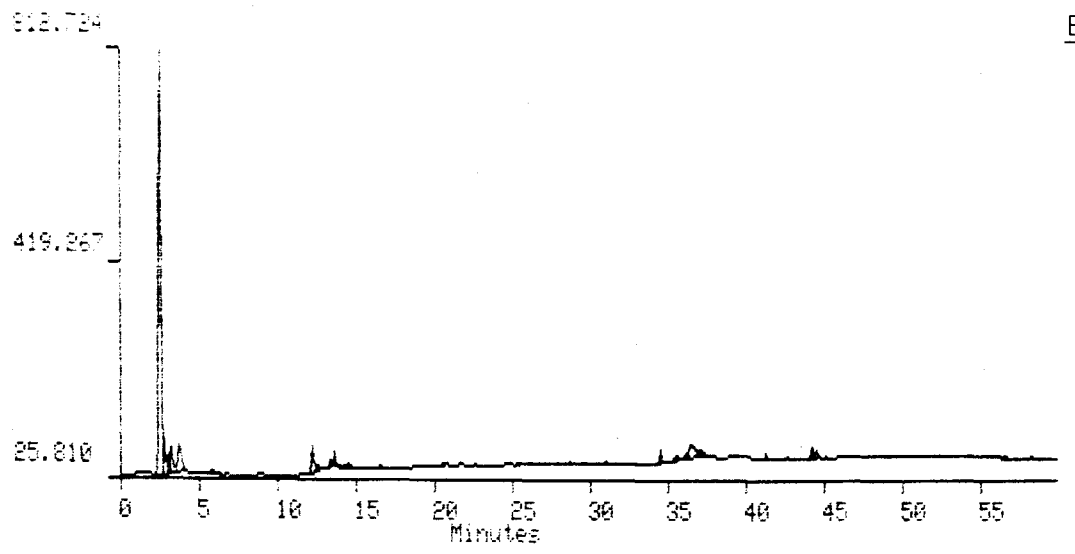
kan 3



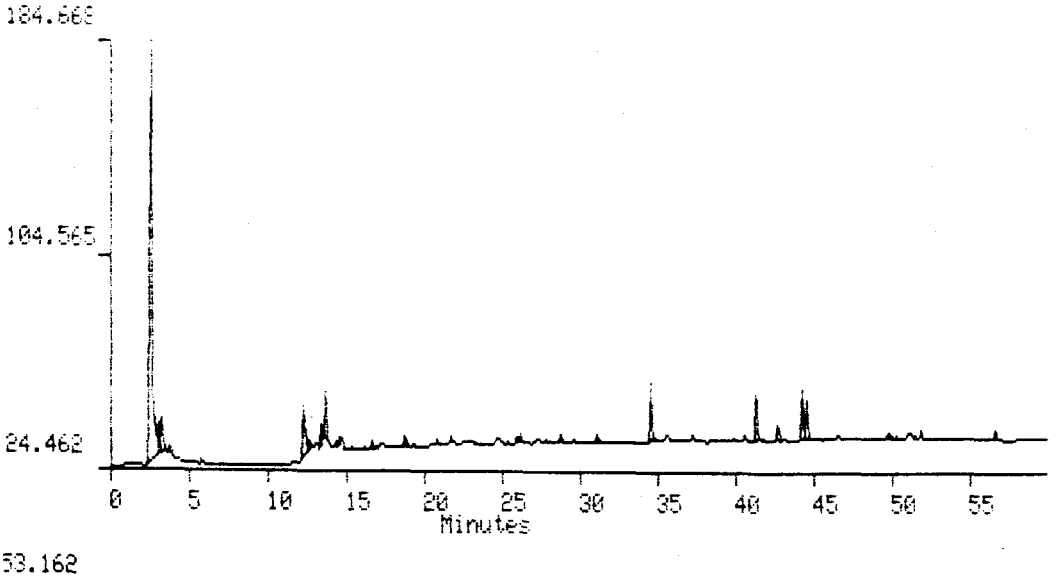
kan 4



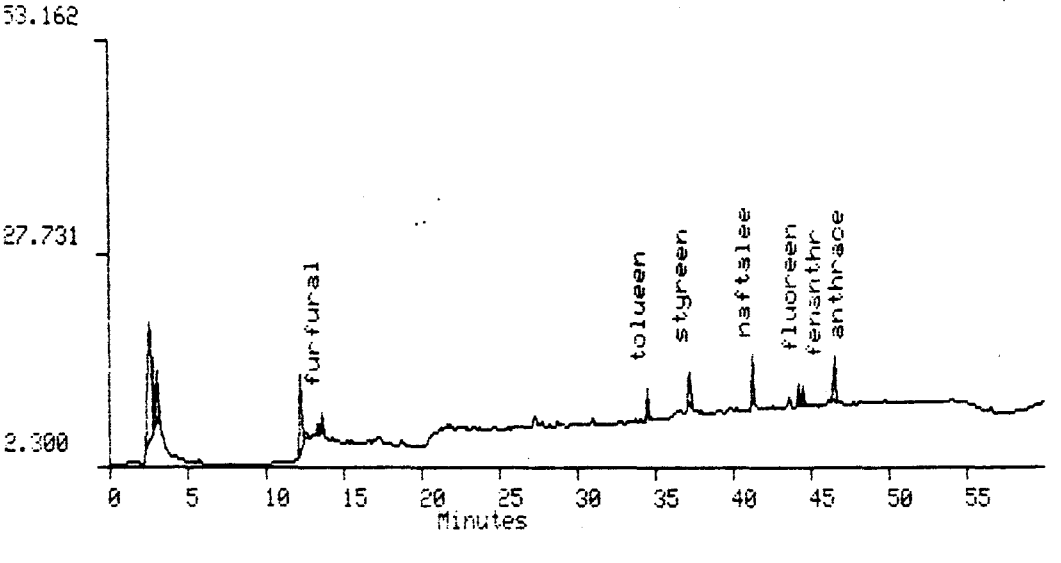
kan 1



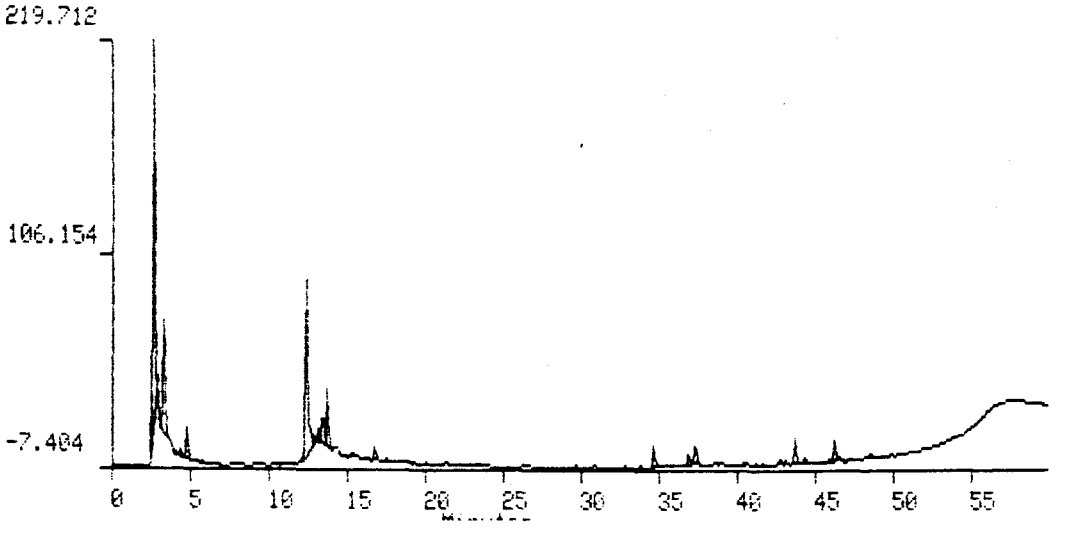
kan 2



kan 3

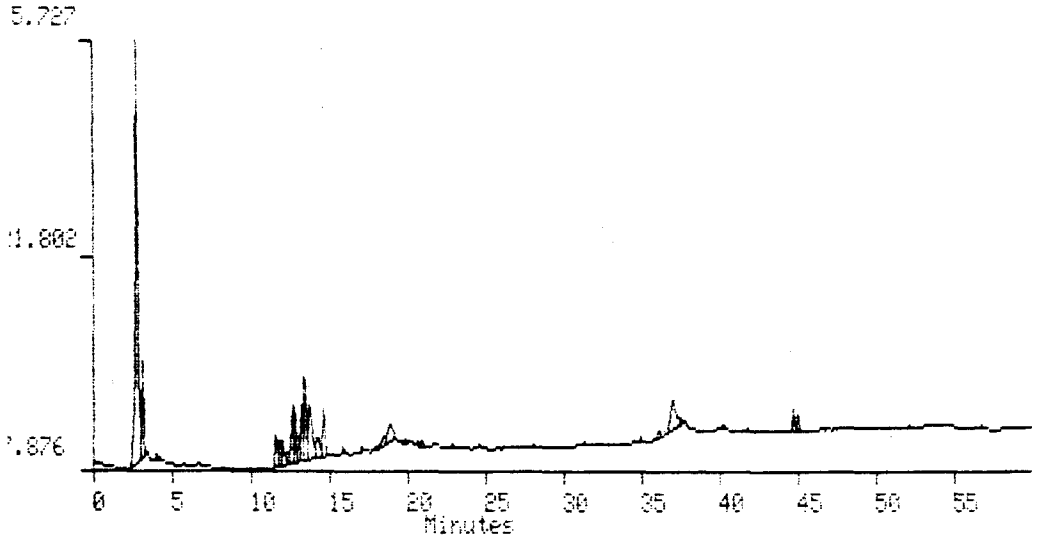


kan 4

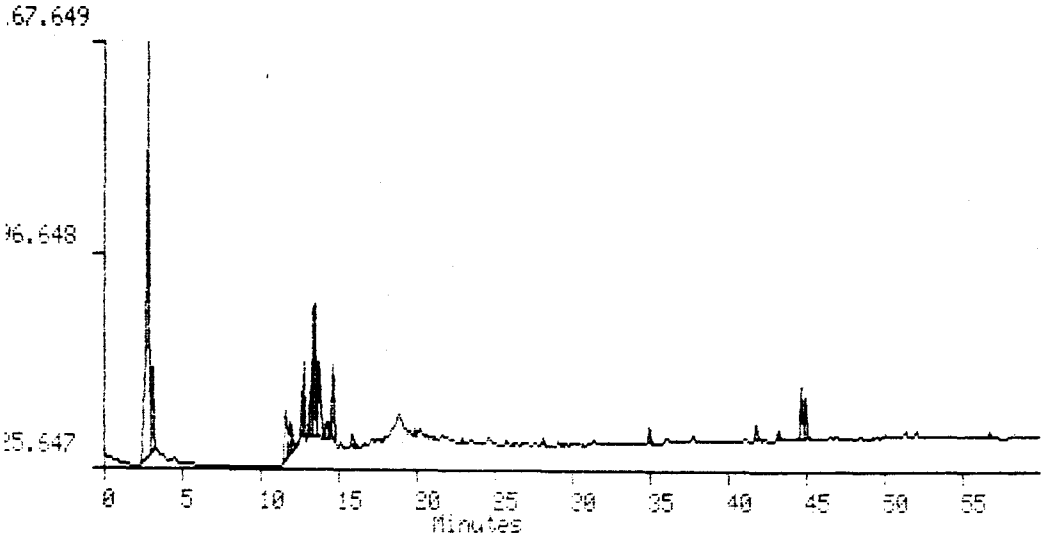


Bijlage 3 CIII H_2O

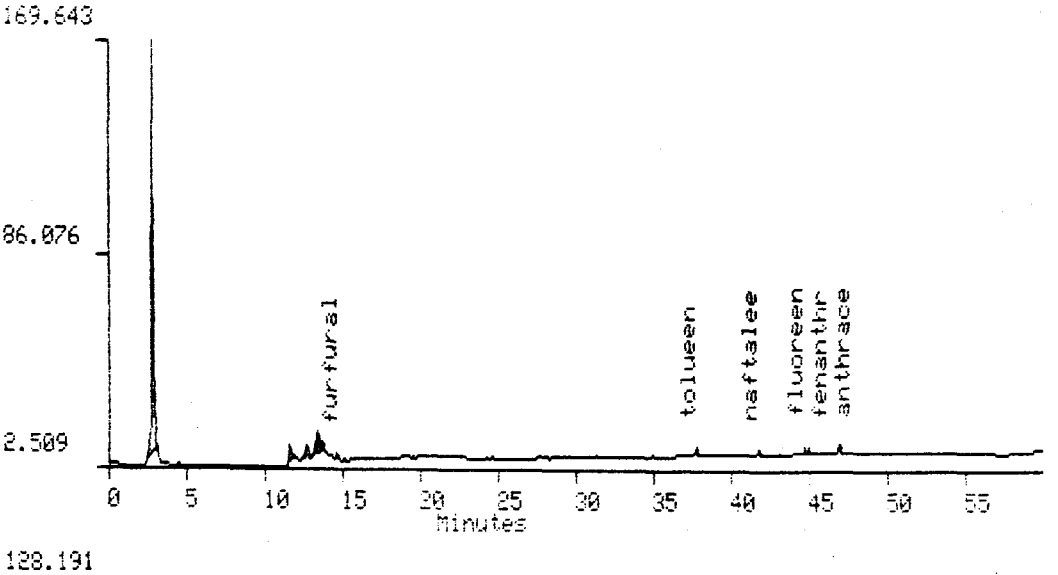
kan 1



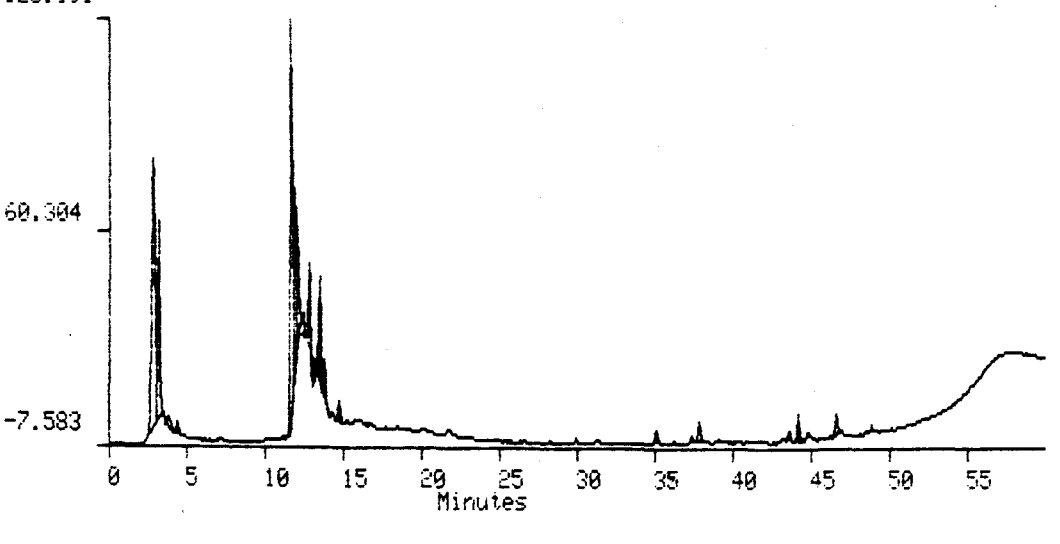
kan 2



kan 3

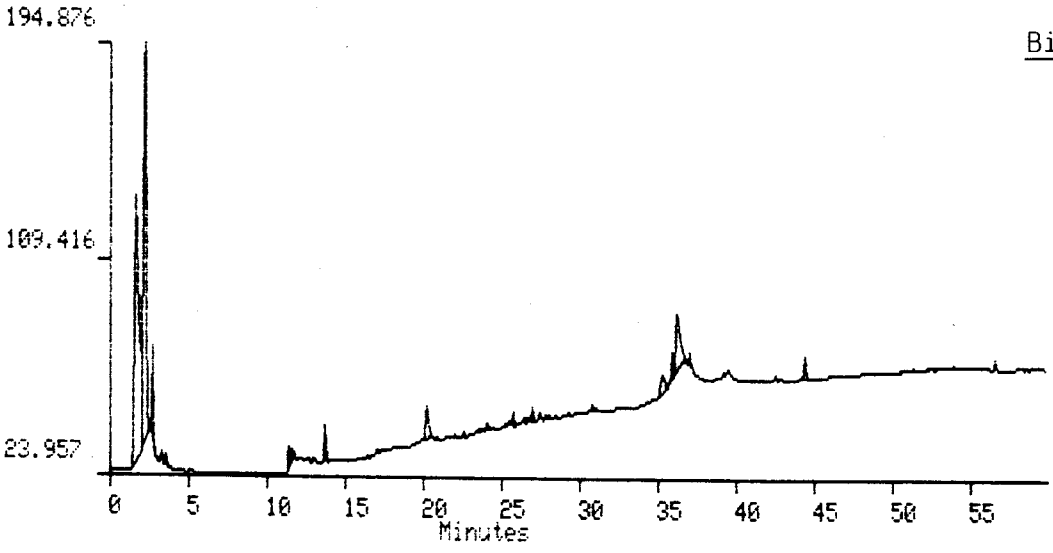


kan 4

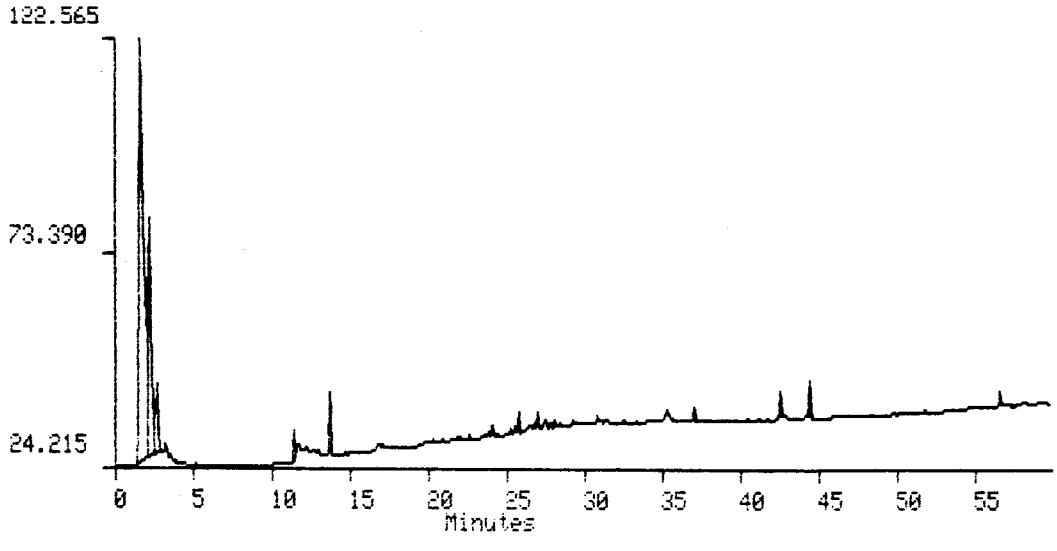


Bijlage 4 BAS H_2O

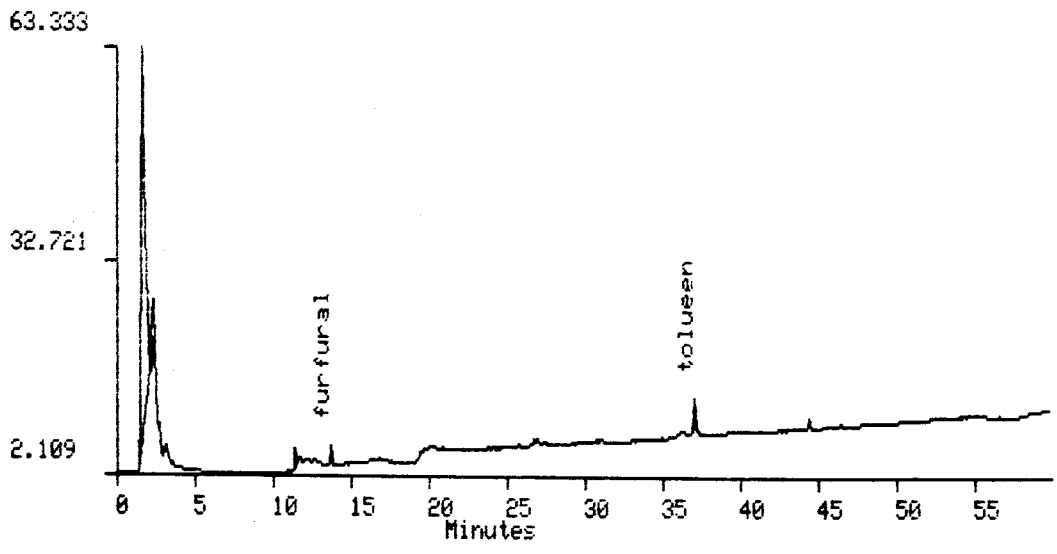
kan 1



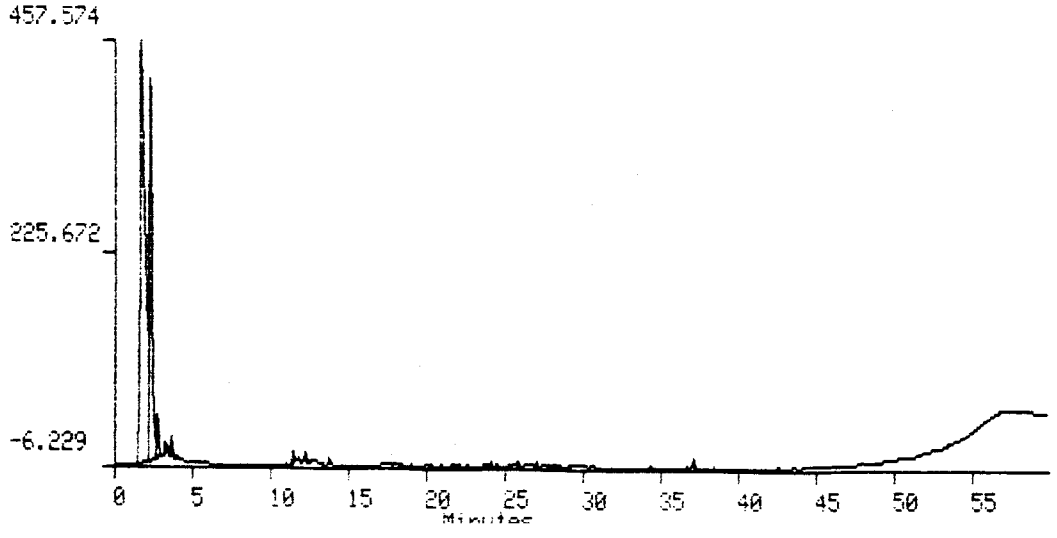
kan 2

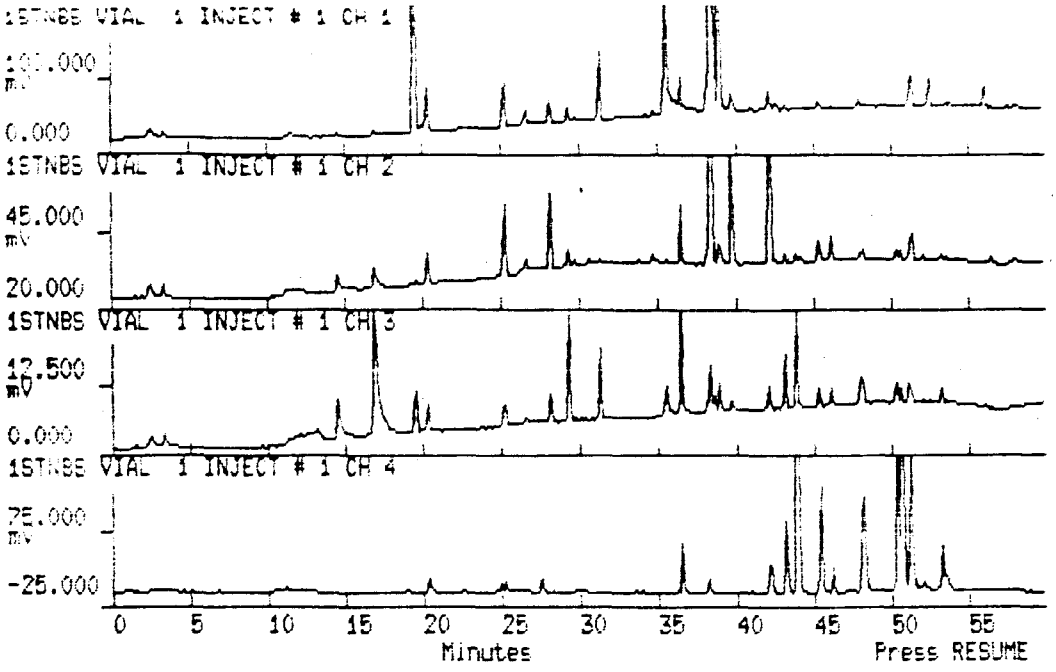


kan 3



kan 4





furfural	14.56	54120	5893	BB	5.4120e+02
methylethylketon	16.91	390813	26637	BB	3.9081e+03
benzylalcohol	19.54	115399	16765	BB	1.1540e+03
fenol	20.36	45617	5326	BB	4.5617e+02
m-cresol	25.27	38754	5134	BB	3.8754e+02
o-nitro-fenol	28.19	61228	8554	BB	6.1228e+02
mono_nitrobenzen	29.36	131795	17547	BB	1.3179e+03
benzeen	31.32	88200	11336	BB	8.8200e+02
tolueen	35.56	55072	7143	BB	5.5072e+02
styreen	36.51	242046	32238	BB	2.4205e+03
naftaleen	38.23	23026	3472	BV	2.3026e+02
o_di_Cl benzeen	38.44	74092	10105	VV	7.4092e+02
acenaftyleen	38.68	18864	2691	VV	1.8864e+02
ethylbenzeen	38.96	43571	5764	VB	4.3571e+02
m_xyleen	39.77	12197	1863	BB	1.2197e+02
fluoreen	42.12	38613	4183	BB	3.8613e+02
fenanthreen	43.17	84413	10870	BB	8.4413e+02
anthraceen	43.86	118240	15266	BB	1.1824e+03
fluorantheen	45.38	36232	4598	BB	3.6232e+02
pyreen	46.18	32316	3996	BB	3.2316e+02
b(a)anthraceen	48.07	32837	5160	BB	3.2837e+02
b(b)fluorantheen	50.35	43714	5590	BV	4.3714e+02
Unknown peak	50.62	32357	4117	VB	0.0000e+00

FORMALDEHYDE BEPALING in waterige oplossingen.

Reagentia

formaldehyde vooraadoplossing, Merck no. 4003
- ρ = 1,08-1,09, minst. 37%, ca 400 g CH_2O/l

chromotroopzuuroplossing, 0,4% in H_2SO_4.
- los 4,0 chromotroopzuur op in 100 ml ged. H_2O. Filtreer over Whatman no 540.
- voeg 700 ml H_2SO_4 gek. toe aan 300 ml ged. H_2O. (voorzichtig onder afkoelen!)
- voeg de H_2SO_4 oplossing bij de chromotroopoplossing. Bewaren in bruine fles.

tussenstandaardoplossing I, ca. 2000 mg CH_2O/l.
- 5,0 ml voorraadoplossing aanvullen tot 1,0 l met ged. H_2O.

tussenstandaardoplossing II, ca. 50 mg CH_2O/l.
- 5,0 ml tussenstandaardoplossing I aanvullen tot 200,0 ml met ged. H_2O.

standaardreeks, 0,5 - 7,5 mg CH_2O/l.
- 0,5 mg CH_2O/l: 1,0 ml tussenstandaardoplossing II aanvullen tot 100,0 ml met ged. H_2O
- 1,0 " : 2,0 ml "
- 2,5 " : 5,0 ml "
- 5,0 " :10,0 ml "
- 7,5 " :15,0 ml "

Uitvoering van de analyse

Pipetteer van de standaarden en monsters 2,0 ml. Voeg toe 8,0 ml chromotroopzuuroplossing. Mengen! Plaats de buizen in een kokend waterbad gedurende 30 minuten; afschermen van licht.
Na afkoelen de kleurintensiteit meten bij 562 nm ten opzichte van de blanko.
Het gevormde komplex is enige uren stabiel.

Berekening

De via de standaardcurve verkregen resultaten staan direkt uitgedrukt in mg formaldehyde per liter.

Resultaten opgeven in één decimaal.

N.B. De juiste koncentratie van de voorraadoplossing dient jodometrisch bepaald te worden.