

Bibliotheek
Proefstation
Naaldwijk

A
2
K
80

PROEFSTATION VOOR TUINBOUW ONDER GLAS TE NAALDWIJK

Fluoridebepaling in gewas met behulp van de ionselectieve electrode

V.M.J. Korpel-Arkesteijn
C.W. van Elderen

Mei 1993

Intern verslag nr 12

INHOUDSOPGAVE

Pagina

| | |
|---|----|
| Samenvatting | 1 |
| 1. Inleiding | 2 |
| 2. Oriëntatie mV-meter met fluoride-electrode | 2 |
| 2.1 Het testen van het systeem | 2 |
| 2.2 Standaardadditie | 3 |
| 3. Oriëntatie fluoridebepaling in gewas | 5 |
| 3.1 De invloed van salpeterzuur op de fluoridebepaling | 5 |
| 3.2 De invloed van verschillende extractiemethoden op de fluoridebepaling | 8 |
| 4. Fluoridebepaling in gewas | 9 |
| 4.1 Detectiegrens | 9 |
| 4.2 De ijklijnmethode | 10 |
| 4.3 De standaardadditiemethode | 11 |
| 5. Conclusie | 11 |
| Literatuur | 13 |
| Figuur 1 en 2 | |
| Bijlage 1 en 2 | |

SAMENVATTING

Omdat de laatste jaren de vraag naar een fluoridebepaling in gewas is toegenomen, is getracht deze bepaling te ontwikkelen met behulp van ionchromatografie. Dit bleek echter niet mogelijk omdat fluoride niet van de andere componenten in het monster te scheiden was. Daarom is in navolging tot een eerder op het laboratorium toegepaste methode een meetstelsel met een ionselectieve electrode aangeschaft. Hiermee zijn een aantal oriënterende experimenten uitgevoerd omtrent het toepassen van een ijklijn- en een standaardadditie-methode, waaruit bleek dat de ijklijnmethode het eenvoudigst toepasbaar is.

Experimenten omtrent verschillende extractiemethoden zijn uitgevoerd en hieruit bleek dat de meest eenvoudige extractiemethode, extraheren tijdens het meten, het best toepasbaar is en dat zowel schudden als filtreren geen beter resultaat of kortere responsietijd opleverde.

Bij het ontwikkelen van een meetmethode is een vergelijk gemaakt tussen een ijklijn- en een standaardadditie-methode door het meten van een aantal monsters afkomstig van het uitwisselingsproject IPE. Hieruit bleek dat de standaardadditiemethode het best de concentratieverschillen weergaf en dat de meetresultaten hiervan wat beter met de referentiewaarden overeenkwamen. Het nadeel van de standaardadditie-methode is de ingewikkelder uitvoering en berekening, doch vanwege de betere resultaten wordt aan deze methode de voorkeur gegeven.

1. INLEIDING

In de jaren '70 werd een bepalingmethode voor fluoride in gewas, grond en waterige extracten toegepast met behulp van een ionselectieve electrode. Hiermee kan de fluorideconcentratie in een oplossing worden bepaald door het meten van het potentiaalverschil tussen deze electrode en een referentie-electrode. Door gebrek aan vraag naar een fluoridebepaling werd deze echter na een aantal jaren afgeschaft. De laatste tijd is de vraag naar een fluoridebepaling in gewas echter weer toegenomen, wat reden was om deze opnieuw op te zetten.

De nieuwe fluoridebepaling zou in eerste instantie ontwikkeld gaan worden met behulp van ionchromatografie. Dit is een techniek waarbij de verschillende componenten in het monster op een kolom worden gescheiden en vervolgens door middel van een geleidbaarheidsdetector worden gekwalificeerd en gekwantificeerd. Deze techniek bleek echter niet toepasbaar te zijn omdat fluoride niet te scheiden was van de in gewas aanwezige organische zuren. Daarom is besloten om opnieuw een fluoridebepaling te ontwikkelen met behulp van de ionselectieve electrode.

In dit verslag is het onderzoek beschreven naar de werking van het hiervoor nieuw aangeschafte meetsysteem. Aan de hand van de resultaten hiervan en aan de hand van de vroegere methode is een nieuwe fluoridebepaling in gewas ontwikkeld.

2. ORIËNTATIE MV-METER MET FLUORIDE-ELECTRODE

Voor de bepaling van het fluoridegehalte in gewas is een Unicam 9460 ion-selective meter met bijbehorende fluoride- en referentie-electrode aangeschaft. Om een indruk te krijgen van de werking van dit systeem zijn standaarden van verschillende concentraties gemeten. Ook is geëxperimenteerd met een standaardadditie-methode door aan een standaard met lage concentratie steeds een kleine hoeveelheid geconcentreerde fluoride-oplossing toe te voegen.

2.1 Het testen van het systeem

Standaarden van $1 \cdot 10^{-1}$ - $1 \cdot 10^{-2}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-6}$ M fluoride zijn bereid. Om een constante ionensterkte te creëren is voor het meten aan elke standaard 5,0 ml TISAB toegevoegd. De mV-waarden zijn direct na het 'ready'-signaal afgelezen en zijn weergegeven in tabel 1. De invloed van de roermotor (bij isolatie met een schuimrubber matje) op de temperatuur van de meetoplossing werd gecontroleerd door middel van een temperatuursonde.

Tabel 1: Gemeten mV-waarden (E) bij standaarden met concentratie C. pF wordt gedefiniëerd als $-\log C$.

| C (M) | pF | E (mV) |
|----------------------|------|--------|
| $0,91 \cdot 10^{-1}$ | 1,04 | -106,7 |
| $0,91 \cdot 10^{-2}$ | 2,04 | - 50,2 |
| $0,91 \cdot 10^{-3}$ | 3,04 | 8,6 |
| $0,91 \cdot 10^{-4}$ | 4,04 | 65,9 |
| $0,91 \cdot 10^{-5}$ | 5,04 | 120,0 |
| $0,91 \cdot 10^{-6}$ | 6,04 | 119,3 |

In figuur 1 is E uitgezet tegen de pF-waarden van de standaarden. Hieruit ontstaat een rechte lijn met een helling van 56 mV/pF-eenheid. Dit komt overeen met de waarde voor een goed werkende electrode, die volgens opgave van de fabrikant tussen 54 en 60 mV/pF-eenheid ligt [1]. Tijdens de metingen viel op dat het signaal bij lage concentraties langzaam stabiliseerde. Dit is ook te zien in figuur 1, waar de mV-waarde van de laagste standaard (pF = 6,04) vrijwel gelijk is aan die van de een na laagste standaard (pF = 5,04). Bij het 'ready'-signaal van de meter is het meetsignaal nog niet gestabiliseerd. Door isolatie van het schuimrubber matje op de roermotor blijft de temperatuur in de meetoplossingen stabiel.

2.2 Standaardadditie

Een standaardadditiemethode is uitgetest door een oplossing met een bekende concentratie (1,0 μM) te bereiden. Aan de oplossing was 5,0 ml TISAB toegevoegd voor het aanvullen naar het eindvolume van 50,0 ml. De concentratie in de meetoplossing werd, na stabilisatie van het meetsignaal, verhoogd door steeds 0,2 ml 0,5 mM fluoride toe te voegen. De resultaten van deze metingen zijn weergegeven in tabel 2.

Tabel 2: Gemeten mV-waarden na toevoegen van V ml additiestandaard. Cs is de fluorideconcentratie in de meetoplossing, afkomstig van de additiestandaard.

| V (ml) | Cs (μM) | E (mV) | V (ml) | Cs (μM) | E (mV) |
|--------|----------------------|--------|--------|----------------------|--------|
| 0,00 | 0 | 165,9 | 1,20 | 11,7 | 114,5 |
| 0,20 | 1,99 | 147,5 | 1,40 | 13,6 | 111,5 |
| 0,40 | 3,97 | 136,5 | 1,60 | 15,5 | 108,1 |
| 0,60 | 5,93 | 129,3 | 1,80 | 17,4 | 105,7 |
| 0,80 | 7,87 | 123,5 | 2,00 | 19,2 | 103,3 |
| 1,00 | 9,80 | 118,7 | | | |

De concentratie van de beginoplossing is berekend volgens onderstaande formule [2]:

$$R = \frac{E3 - E1}{E2 - E1} = \frac{\log [(C_m + 2 * C_s) / C_m]}{\log [(C_m + C_s) / C_m]} \quad (1)$$

Hierin is:

- R = verhouding tussen de berekende potentiaalverschillen
- E1 = mV-waarde van het monster
- E2 = mV-waarde van het monster na toevoeging van een hoeveelheid standaardoplossing
- E3 = mV-waarde van het monster na toevoeging van een dubbele hoeveelheid standaardoplossing
- C_m = fluorideconcentratie van het monster (mol/l)
- C_s = toegevoegde fluorideconcentratie in de meetoplossing van één hoeveelheid standaardoplossing (mol/l)

De volgende combinaties uit tabel 2 zijn mogelijk:

| | | |
|-----------------------|------------------|------------|
| 0,00 - 0,20 - 0,40 ml | additiestandaard | toegevoegd |
| 0,00 - 0,40 - 0,80 ml | " | " |
| 0,00 - 0,60 - 1,20 ml | " | " |
| 0,00 - 0,80 - 1,60 ml | " | " |
| 0,00 - 1,00 - 2,00 ml | " | " |

Als voorbeeld is bovenstaande formule uitgewerkt voor toevoegingen van 0,00 - 0,20 - 0,40 ml additiestandaard. Deze kan dan op onderstaande wijze worden ingevuld:

$$R = \frac{136,5 - 165,9}{147,5 - 156,9} = \frac{\log [(C_m + 2 * 1,99 * 10^{-6}) / C_m]}{\log [C_m + 1,99 * 10^{-6}) / C_m]} = 1,598$$

Omdat C_m uit formule 1 moeilijk te berekenen is, is de verhouding C_m/C_s bepaald aan de hand van een tabel waarin bij verschillende waarden voor R de verhouding C_m/C_s is berekend [2]. Hieruit blijkt voor bovenstaande waarden een C_m/C_s-verhouding van 1,086, zodat C_m te berekenen is door:

$$C_m = 1,086 * C_s \quad (2a)$$

ingevuld:

$$1,086 * 1,99 * 10^{-6} = 2,2 * 10^{-6} \text{ M fluoride} \quad (2b)$$

De uit de andere combinaties berekende waarden voor C_m zijn weergegeven in tabel 3.

Tabel 3: Berekende concentraties C_m van de uitgangsooplossing (met een theoretische concentratie van $1,0 \mu\text{M}$) bij combinaties van toegevoegde hoeveelheden additiestandaard.

| | C_m (μM) |
|-----------------------|-------------------------|
| 0,00 - 0,20 - 0,40 ml | 2,2 |
| 0,00 - 0,40 - 0,80 ml | 1,7 |
| 0,00 - 0,60 - 1,20 ml | 2,0 |
| 0,00 - 0,80 - 1,60 ml | 2,0 |
| 0,00 - 1,00 - 2,00 ml | 1,7 |
| gemiddeld: | 1,9 |

Wanneer de gemiddelde berekende waarde vergeleken wordt met de uitgangswaarde ($1,0 \cdot 10^{-6} \text{ M}$), blijkt dat deze redelijk overeenkomen. Hierbij moet rekening gehouden worden met de zeer lage concentratie van de beginoplossing. Bij lage concentraties in de meetoplossing is de procentuele afwijking vaak groot. Aangezien echter een ijklijnmethode directer is en minder rekenwerk vereist, is besloten om het onderzoek vooralsnog hierop toe te spitsen.

3. ORIËNTATIE FLUORIDEBEPALING IN GEWAS

Voor het opzetten van een bepalingmethode van het fluoridegehalte in gewas zijn enige varianten gemaakt op het oude voorschrift [3]. Deze varianten en het oude voorschrift zijn met elkaar vergeleken om de invloed van salpeterzuur op de bepalingmethode vast te stellen. Ook is door variëren in de extractiemethode de invloed hiervan op de responsiteit van de meting bepaald.

3.1 De invloed van salpeterzuur op de fluoridebepaling

Het oude voorschrift [3] beschrijft een standaardreeks in ppm fluoride. Omgerekend geeft dit $1,00 - 2,50 - 5,00 - 10,0 - 25,0 - 50,0 \mu\text{M}$ fluoride. $2,0 \text{ ml}$ salpeterzuur 65% en $5,0 \text{ ml}$ TISAB zijn aan elke standaard toegevoegd voordat is aangevuld naar een totaalvolume van $50,0 \text{ ml}$. De mV-waarden van de standaarden zijn gemeten en afgelezen na stabilisatie van het signaal. Dit laatste werd gecontroleerd met behulp van een penrecorder. De invloed van de roermotor op de temperatuur van de meetoplossing werd gecontroleerd door middel van een temperatuursonde. Voor de hieronder beschreven gewasextracties zonder salpeterzuur is een identieke standaardreeks gemaakt, waaraan geen salpeterzuur is toegevoegd.

De volgende verschillende gewasextracties voor de fluoridebepaling zijn toegepast:

1. Volgens het oude voorschrift [3]:
 - Weeg 2,000 g luchtdroog gewas af in een bekerglas van 100 ml.
 - Voeg 2,0 ml 65 % salpeterzuur toe; zorg ervoor dat al het gewas hiermee in aanraking komt.
 - Voeg 43 ml water en 5,0 ml TISAB toe en meng goed.
 - Dompel de elektroden en de temperatuursonde in de oplossing en lees de mV-waarde af wanneer het signaal stabiel is.
2. Als 1, schud echter voor het meten de extracten 30 min bij 150 toeren/min.
3. - Weeg 2,000 g luchtdroog gewas af in een bekerglas van 100 ml.
 - Voeg 45 ml water en 5,0 ml TISAB toe en meng goed.
 - Dompel de elektroden en de temperatuursonde in de oplossing en lees de mV-waarde af wanneer het signaal stabiel is.
4. Als 3, schud echter voor het meten de extracten 30 min bij 150 toeren/min.

In de tabellen 4 en 5 zijn de gemeten waarden van standaarden en monsters weergegeven.

Tabel 4: Gemeten mV-waarden (E) in salpeterzuur/TISAB-milieu van de standaarden met concentratie C en van 8502, bereid via methode 1 en 2. De responsietijd is weergegeven als t_r en G is het berekende fluoridegehalte in het monster.

| C (uM) | E (mV) | t_r (min) | G (mmol/kg) |
|--------|--------|-------------|-------------|
| 1,00 | 283,2 | 5,5 | |
| 2,50 | 271,4 | 13,5 | |
| 5,00 | 256,6 | 12,0 | |
| 10,0 | 240,0 | 6,0 | |
| 25,0 | 216,8 | 4,0 | |
| 50,0 | 198,9 | 3,0 | |
| 8502,1 | 250,7 | 28,0 | 0,16 |
| 8502,2 | 251,4 | 9,0 | 0,15 |

Tabel 5: Gemeten mV-waarden (E) in TISAB-milieu van de standaarden met concentratie C en van 8502, bereid via methode 3 en 4. De responsietijd is weergegeven als t_r en G is het berekende fluoridegehalte in het monster.

| C (uM) | E (mV) | t_r (min) | G (mmol/kg) |
|--------|--------|-------------|-------------|
| 1,00 | 156,7 | 29,0 | |
| 2,50 | 143,4 | 22,0 | |
| 5,00 | 129,3 | 12,0 | |
| 10,0 | 113,2 | 19,0 | |
| 25,0 | 90,3 | 8,5 | |
| 50,0 | 73,2 | 9,0 | |
| 8502,3 | 141,1 | 40,0 | 0,069 |
| 8502,4 | 141,7 | 21,0 | 0,067 |

In figuur 2 zijn beide ijklijnen afgebeeld. Te zien is dat deze vrijwel dezelfde helling en nauwkeurigheid hebben, maar dat de mV-waarden van de ijklijn in het salpeterzuur/TISAB-milieu aanzienlijk hoger zijn dan die van de ijklijn in het TISAB-milieu. Dit wordt veroorzaakt door het toevoegen van salpeterzuur aan het extract. De hogere ionensterkte, die hierdoor ontstaat, kan niet meer geheel opgevangen worden door de TISAB-buffer. Doordat echter de hoeveelheid salpeterzuur steeds even groot is, heeft dit geen nadelige invloed op de nauwkeurigheid van de meting. Salpeterzuur heeft dus geen invloed op de kwaliteit van de ijklijn, maar wel op het niveau. Hierom is het belangrijk dat monsters en standaarden in het zelfde milieu gemeten worden.

Uit de tabellen 4 en 5 blijkt dat de ijklijn met salpeterzuur de kortste responsietijden heeft. Ook is te zien dat schudden de responsietijd verkort. Door schudden wordt fluoride uit het gewas vrijgemaakt, zodat dit niet meer tijdens het meten hoeft te gebeuren. De fluoridegehalten in het gewas worden berekend met formule 3, waarin C de gemeten fluorideconcentratie in M is, V het monstervolume in l (0,050 l) en I de inweeg in g (2,000 g).

$$G = \frac{C * V * 1.000.000}{I} = 25.000 * C \quad (3)$$

De referentiewaarde van het fluoridegehalte in 8502 bedraagt 0,21 mmol/kg stoofdroog gewas [4]. Uit tabel 4 blijkt dat de gevonden fluoridegehalten in de aangezuurde extracten deze waarde redelijk benaderen. De fluoridegehalten in de niet-aangezuurde extracten (tabel 5) zijn te laag. Salpeterzuur is dus noodzakelijk om fluoride vrij te maken uit het gewas.

De temperatuur in de standaardoplossingen bleef goed stabiel maar bij het meten van de monsteroplossingen kwamen soms zeer hoge temperaturen voor, variërend van 80 tot 110 °C. Dit wordt veroorzaakt doordat gewasdeeltjes aan de sonde kleven en hierdoor kortsluiting veroorzaken. Omdat de roermotor bij de standaarden en ook bij de eerdere experimenten geen invloed op de temperatuur van de meetoplossingen heeft gehad, zal de temperatuursonde niet meer gebruikt worden. Een voordeel hiervan is dat de elektroden meer ruimte in de oplossing hebben, waardoor het meetsignaal wat minder beïnvloed wordt door ruis.

3.2 De invloed van verschillende extractiemethoden op de responsietijd

Het duurt soms erg lang voordat het meetsignaal voldoende gestabiliseerd is. Door het toepassen van de volgende extractiemethoden is onderzocht of de responsietijd kan worden verkort:

1. - Weeg 2,000 g luchtdroog gewas af in een bekerglas van 100 ml.
 - Voeg 2,0 ml 65 % salpeterzuur toe; zorg ervoor dat al het gewas hiermee in aanraking komt.
 - Voeg 43 ml water en 5,0 ml TISAB toe en meng goed.
 - Schud de monsters 30 minuten bij 150 toeren/min.
 - Dompel de elektroden in de oplossing en lees de mV-waarde af wanneer het signaal stabiel is.
2. Als 1. Voeg nu echter pas na het schudden 5,0 ml TISAB toe.
3. - Weeg 2,000 g luchtdroog gewas af in een bekerglas van 100 ml.
 - Voeg 2,0 ml 65 % salpeterzuur toe; zorg ervoor dat al het gewas hiermee in aanraking komt.
 - Voeg 43 ml water en 5,0 ml TISAB toe en meng goed.
 - Dompel de elektroden in de oplossing en lees de mV-waarde af wanneer het signaal stabiel is.
4. - Weeg 2,000 g luchtdroog gewas af in een bekerglas van 100 ml.
 - Voeg 2,0 ml 65 % salpeterzuur toe; zorg ervoor dat al het gewas hiermee in aanraking komt.
 - Voeg 43 ml water en 5,0 ml TISAB toe en meng goed.
 - Schud de monsters 30 minuten bij 150 toeren/min.
 - Filtreer zoveel mogelijk van het extract over S & S 1506.
 - Dompel de elektroden in de oplossing en lees de mV-waarde af wanneer het signaal stabiel is.
5. Als 4. Voeg nu echter pas na het schudden 5,0 ml TISAB toe.

Alle extracten zijn gemeten ten opzichte van de in 3.1 beschreven aangezuurde ijklijn.

Tabel 6: Berekende fluoridegehalten G van 8502. De responsietijd is weergegeven door t_r .

| | G (mmol/kg) | t_r (min) |
|-----------|-------------|-------------|
| volgens 1 | 0,13 | 41 |
| volgens 2 | 0,14 | 26 |
| volgens 3 | 0,13 | 28 |
| volgens 4 | 0,13 | 34 |
| volgens 5 | 0,14 | 30 |

Uit tabel 6 en de verschillende extractiemethoden blijkt dat het toevoegen van TISAB geen invloed heeft op de extractie. De vastgestelde gehalten komen redelijk met de referentie (0,21 mmol/kg) en goed met elkaar en eerdere waarnemingen overeen. De responsietijd bij de eerste methode is duidelijk langer dan bij de andere, doch wanneer de responsietijden van de methoden 2, 4 en 5, waarin geschud wordt, vergeleken worden met de responsietijd van methode 3, waarin niet geschud wordt, kan gesteld worden dat schudden geen invloed heeft op de responsietijd. Dit in tegenstelling tot eerdere waarnemingen, waarbij het schudden van de meetsuspensie wel invloed leek te hebben op de responsietijd. Een nadeel van de methoden 4 en 5 is de filtratiestap: Deze duurt lang en is omslachtig omdat vrijwel de totale hoeveelheid monster nodig is voor de meting.

Omdat de verschillende extractiemethoden geen invloed hebben op de metingen, wordt gekozen voor de meest eenvoudige: methode 3. Dit is in overeenstemming met het oude voorschrift [3].

4. FLUORIDEBEPALING IN GEWAS

4.1 Detectiegrens

In het algemeen zijn de fluoridegehalten in gewas erg laag en hebben de meetsuspensies een concentratie van 1 - 10 μM . De detectiegrens van de fluoridebepaling met behulp van de ionselectieve electrode is moeilijk vast te stellen omdat de ijklijn in het lage gebied een kromming vertoont, doch concentraties beneden 1 μM zijn niet meer betrouwbaar te meten [1]. Deze detectiegrens van 1 μM zal worden gehanteerd en komt overeen met een minimum gehalte van 0,025 mmol fluoride/kg luchtdroog gewas.

4.2 De ijklijnmethode

Aan de hand van voorgaande experimenten is een voorschrift voor de fluoridebepaling in gewas opgesteld (bijlage 1). Volgens dit voorschrift zijn de monsters uit tabel 7, afkomstig uit het uitwisselingsonderzoek IPE [4] in duplo gemeten. De resultaten zijn weergegeven in tabel 8.

Tabel 7: Monsters, gebruikt voor het testen van de fluoridebepaling in gewas.

| Nr | IPE-nr | Gewas |
|------|--------|------------------|
| 1 | 883 | Anjer (blad) |
| 2 | 684 | Tarwe (graan) |
| 3 | 899 | Kool (blad) |
| 4 | 967 | Banaan (schil) |
| 8502 | 830 | Tomaat (blad) |
| 8602 | 861 | Komkommer (blad) |

Tabel 8: Resultaten van de fluoridebepaling in gewas volgens de ijklijnmethode. Hierin is G het fluoridegehalte en Gr de referentiewaarde in mmol/kg stoofdroog gewas. VC is de variatiecoëfficiënt.

| nr | G (mmol/kg) | VC (%) | Gr (mmol/kg) | VC (%) |
|------|-------------|--------|--------------|--------|
| 1 | 0,31 | 2,3 | 2,84 | 31 |
| 2 | <0,025 | -- | 0,053 | 50 |
| 3 | 0,099 | 1,4 | 0,21 | 30 |
| 4 | <0,025 | -- | 0,089 | 30 |
| 8502 | 0,12 | 0,0 | 0,21 | 79 |
| 8602 | 0,55 | 1,3 | 0,58 | 79 |

Uit tabel 8 blijkt dat alleen de gevonden fluoridegehalten van 8502 en 8602 overeenkomen met de referentiewaarden. Hierbij dient wel opgemerkt te worden dat alleen de referentiewaarde van 1 voortkomt uit meer dan 3 metingen. Het is in het algemeen moeilijk om referentiemonsters te vinden, omdat er maar weinig deelnemers aan het IPE onderzoek zijn die de fluoridebepaling insturen. De betrouwbaarheid van deze referentiewaarden moet dus enigzins gerelativeerd worden. Zeer lage fluoridegehalten zijn met de ijklijnmethode moeilijk te bepalen omdat deze snel buiten de ijklijn vallen.

4.3 De standaardadditie-methode

Om nader inzicht te verkrijgen in het fluoridegehalte van de in tabel 7 genoemde monsters, is de in bijlage 2 beschreven standaardadditiemethode toegepast. De rekenmethode en de tabel in bijlage 2 [2] zijn eerder gebruikt in hoofdstuk 2. De resultaten zijn weergegeven in tabel 9.

Tabel 9: Resultaten fluoridebepaling in gewas volgens de standaardadditiemethode. Hierin is G het fluoridegehalte en Gr de referentiewaarde in stoofdroog gewas. VC is de variatiecoëfficiënt.

| nr | G (mmol/kg) | VC (%) | Gr (mmol/kg) | VC (%) |
|------|-------------|--------|--------------|--------|
| 1 | 4,4 | 23 | 2,84 | 31 |
| 2 | 0,031 | 2,3 | 0,053 | 50 |
| 3 | 0,099 | 2,2 | 0,21 | 30 |
| 4 | 0,049 | 14 | 0,089 | 30 |
| 8502 | 0,14 | 16 | 0,21 | 79 |
| 8602 | 0,43 | 1,7 | 0,58 | 79 |

Het fluoridegehalte in monster 1 is volgens de referentie duidelijk hoger dan in de andere monsters. Dit komt wel tot uitdrukking bij de standaardadditie-methode en niet bij de ijklijnmethode (tabel 8). Ook de monsters 2 en 4 komen met deze methode beter met de referentie overeen dan met de ijklijnmethode. Monster 3 heeft volgens beide methoden een lager fluoridegehalte dan de referentie. Bij de monsters 8502 en 8602 komen alle waarden overeen.

5. CONCLUSIE

Wanneer metingen in salpeterzuur/TISAB-milieu vergeleken worden met metingen in TISAB-milieu, is te zien dat de meetwaarden in TISAB-milieu beduidend lager zijn dan de andere en niet overeenkomen met de referentiewaarden. Salpeterzuur is dus noodzakelijk voor het vrijmaken van fluoride uit het gewas. Het zorgt echter voor een zo hoge ionensterkte in de meetoplossingen, dat dit niet meer geheel gecompenseerd kan worden door de TISAB-buffer. De mV-waarden in salpeterzuur/TISAB-milieu zijn hierdoor beduidend hoger. Doordat echter de hoeveelheid salpeterzuur steeds even groot is, heeft dit geen nadelige invloed op de nauwkeurigheid van de meting.

Schudden en filtreren van het extract bleken geen invloed op de responsietijd van de meting te hebben. TISAB bleek eveneens van geen invloed op de extractie, maar is alleen nodig om een gelijke ionensterkte te verkrijgen in de monster- en standaardoplossingen. De meest efficiënte extractiemethode is dus extraheren tijdens het meten.

Om een beeld te krijgen van de verschillen en overeenkomsten tussen de ijklijn- en de standaardadditiemethode, is hieronder een overzicht gegeven.

IJKLIJNMETHODE

- Neemt minder tijd in beslag naarmate er meer monsters zijn.
- De uitvoering en berekening zijn eenvoudig.
- De methode werkt goed vanaf 10 μM , d.i. 0,25 mmol/kg luchtdroog gewas. De monsters hebben echter lagere fluoridegehalten.
- De waarden komen wisselend overeen met de referentiewaarden.

STANDAARDADDITIEMETHODE

- Neemt meer tijd in beslag, maar voordelig bij weinig monsters.
- De uitvoering en berekening zijn ingewikkeld.
- De methode werkt goed vanaf de detectiegrens van 1 μM , d.i. 0,025 mmol/kg luchtdroog gewas.
- De waarden komen wisselend overeen met de referentiewaarden.

Het grootste nadeel van de standaardadditiemethode is dat kleine afwijkingen in de mV-waarden snel grote verschillen geven in de berekende gehalten. Tevens is enig inzicht vereist om de juiste hoeveelheid additiestandaard toe te voegen.

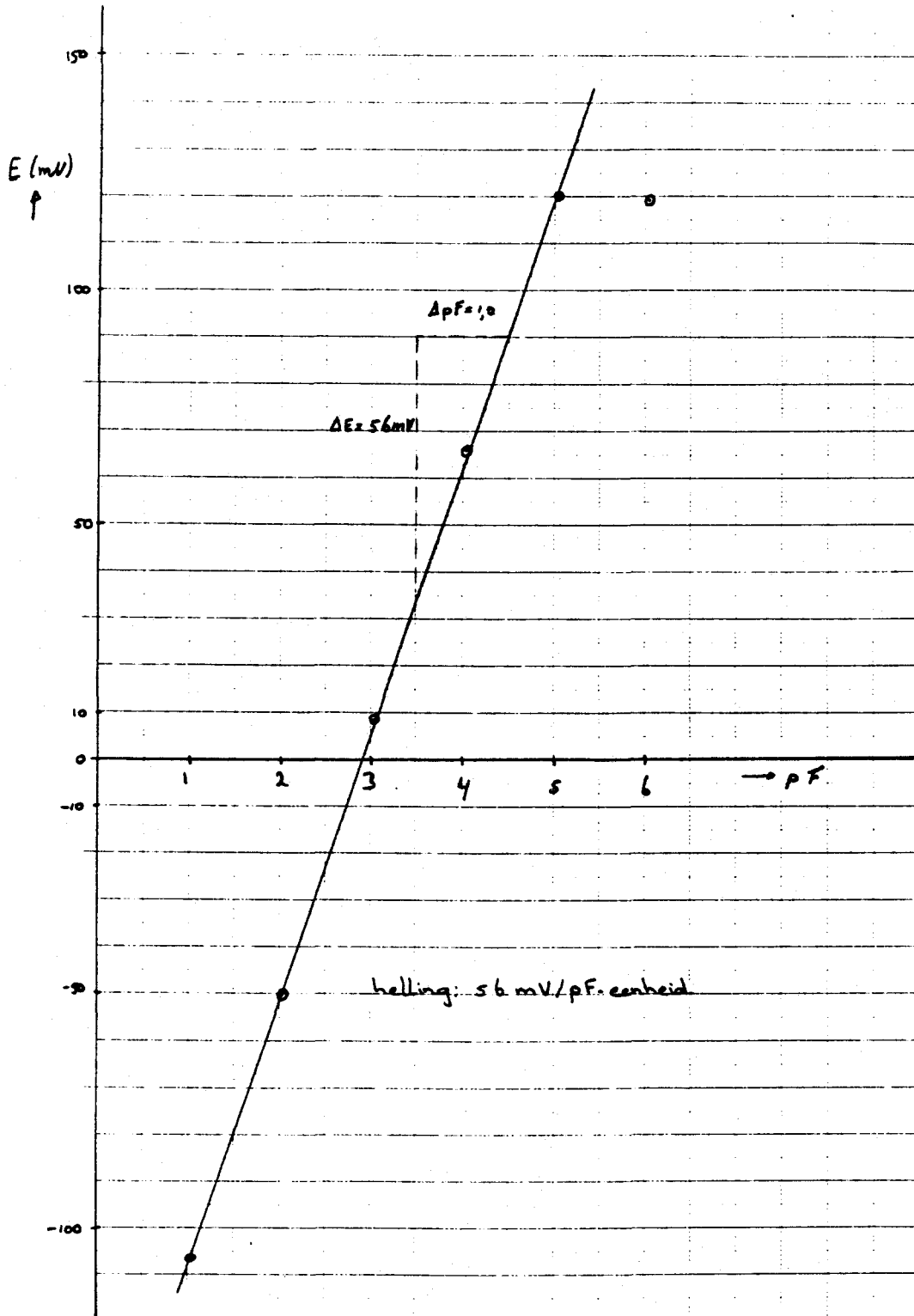
de resultaten komen wisselend overeen met de IPE-waarden. Dit is deels te wijten aan het lage aantal IPE-deelnemers die een fluoride-analyse toepassen. Monster 1 heeft (volgens IPE) een duidelijk hoger fluoridegehalte dan de rest. Monsters 2 en 4 hebben een wat lager fluoridegehalte. Dit komt wel tot uiting bij de standaardadditiemethode, maar niet bij de ijklijnmethode.

Het aantal monsters is te klein om een duidelijk beeld te vormen van de beide methoden, doch meer monsters zijn niet voorhanden. De standaardadditiemethode toont beter verschillen aan en geeft bij de lagere gehalten een betere indicatie van de hoeveelheid fluoride in gewas. Ondanks de ingewikkelder uitvoering en berekening is daarom voor het opnemen in het routine-onderzoek gekozen voor de standaardadditiemethode.

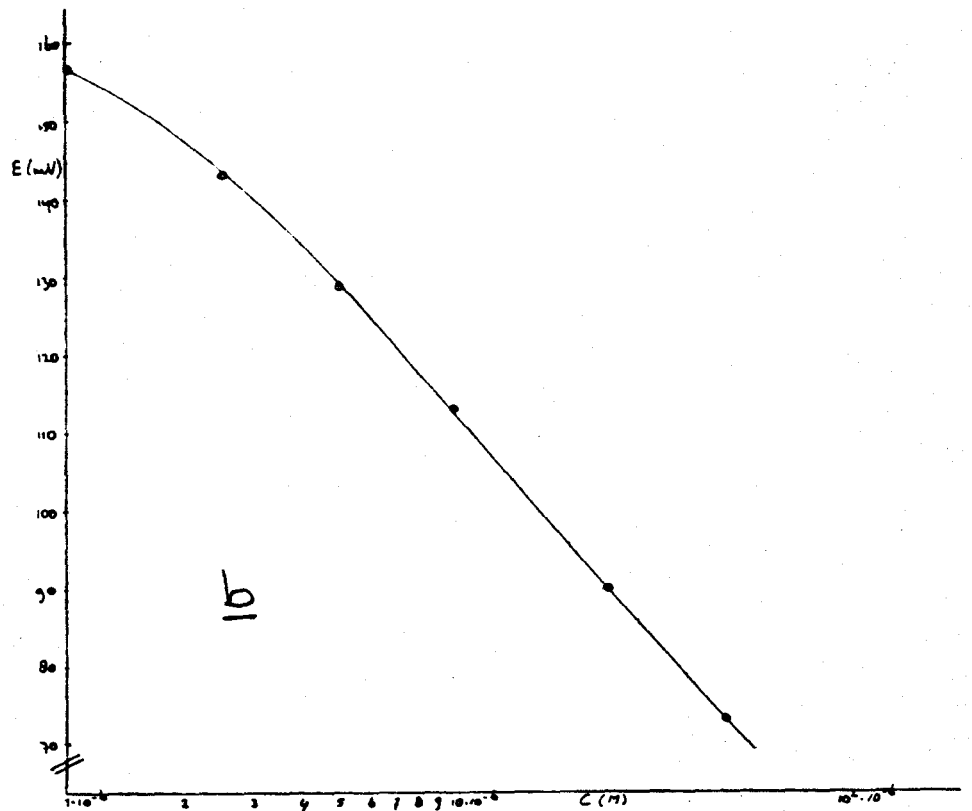
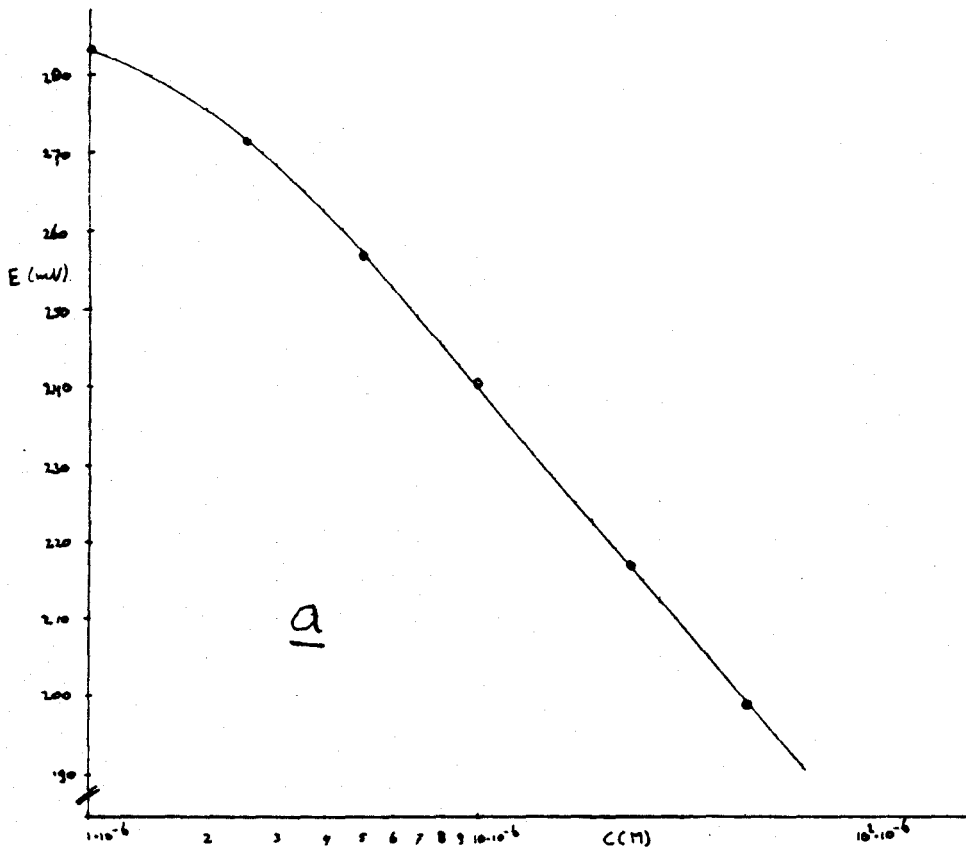
LITERATUUR

- [1] Unicam ltd.
IS-F fluoride electrode 9436 095 80083 instruction manual.
Cambridge, United Kingdom. 1991.
- [2] Camman, C.
Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden.
Eine Einführung.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 1973.
- [3] Solingen-v.d. Berg, W.H. van en P.A. van Dijk.
De bepaling van fluoride met de specifieke electrode.
Naaldwijk, PTG. Maart 1973.
- [4] Houba, V.J.G., J. Uittenboogaard en A.M. de Lange-Harmse.
Chemical composition of various plant species (1980-1990).
Report of IPE-program.
Department of soil science and plant nutrition.
Wageningen, The Netherlands. 1991.

Figuur 1: Fluoride-standaardlijn:
Het potentiaalverschil E (mV) uitgezet
tegen de pF-waarden van de standaarden.



Figuur 2: Fluoride-ijklijn in
a: salpeterzuur/TISAB-milieu
b: TISAB-milieu



3.22 BEPALING VAN FLUORIDE IN GEWAS

3.22.1 Onderwerp

Dit voorschrift beschrijft een methode voor de bepaling van fluoride in gedroogd gewas met behulp van een ionselectieve electrode.

3.22.2 Toepassing

Dit voorschrift is van toepassing op alle soorten gedroogde gewasmonsters. Het minimum gehalte dat bepaald kan worden bedraagt 0,03 mmol/kg luchtdroog gewas.

3.22.3 Principe

Door extractie van het gewas met salpeterzuur wordt fluoride in oplossing gebracht. De fluorideconcentratie van de suspensie wordt bepaald met behulp van een ionselectieve electrode. Een TISAB-buffer wordt toegevoegd om een constante ionensterkte te creëren.

3.22.4 Reagentia

Salpeterzuur 65 % geconcentreerd pa.

TISAB

- los 265 g ammoniumchloride pa, 53 g ammoniumacetaat pa, 19 g titriplex IV pa en 60 mg cresol rood pa. op in 400 ml water. Spoel over in een maatkolf van 1 l en vul aan met water.

Vulvloeistof

- Unicam RE15 reference electrode outer electrolyte filling solution

Hoofdstandaardoplossing fluoride, 100 mmol/l

Tussenstandaardoplossing, 1,00 mmol/l

- pipetteer 1,00 ml hoofdstandaardoplossing in een maatkolf van 100 ml en vul aan met water.

geschreven door : V.M.J. Korpel-Arkesteijn

onderwerp : F-XX02

versie : 1

datum : 07-06-1993

voor akkoord :

pagina : 1 van 3

Standaardreeks: 1,00 - 2,50 - 5,00 - 10,0 - 25,0 - 50,0 - 100 umol/l fluoride

- de reeks als volgt bereiden:

1,00 umol/l: pipetteer 0,050 ml tussenstandaardoplossing in een maatkolf van 50 ml

2,50 umol/l: 0,125 idem

5,00 umol/l: 0,250 idem

10,0 umol/l: 0,500 idem

25,0 umol/l: 1,25 idem

50,0 umol/l: 2,50 idem

100 umol/l: 5,00 idem

Voeg aan elk van de standaarden 2,0 ml salpeterzuur 65 % geconcentreerd pa. en 5,0 ml TISAB toe en vul aan tot 50,0 ml met water.

3.22.5 Apparatuur

Unicam 9460 ion-selective meter

Unicam IS-F fluoride electrode

Unicam RE15 referentie electrode

Skalar penrecorder 7021

Magnetische roermotor met roermagneet en isolatiematje

3.22.6 Werkwijze

3.22.6 a voorbehandeling monsters

- Weeg 2,000 g luchtdroog gewas af en breng dit over in een bekeerglas van 100 ml.
- Voeg 2,0 ml salpeterzuur 65 % geconcentreerd toe.
- Voeg 43 ml water toe en meng goed.
- Voeg 5,0 ml TISAB toe en meng goed.

3.22.6 b de meetmethode

- Vul de referentie-electrode bij met vulvloeistof.
- Spoel de elektroden schoon met water en maak ze droog.
- Zet de mV-meter en de penrecorder aan.
- Plaats de elektroden in de laagste standaardoplossing.
- Meet de oplossing tot het signaal stabiel is en noteer dan de mV-waarde.
- Meet op dezelfde manier de andere standaarden in een oplopende reeks en vervolgens de monsters.
- Zet de mV-meter en de penrecorder uit.
- De fluoride-electrode droog bewaren, de referentie-electrode bewaren in water.

geschreven door : V.M.J. Korpel-Arkesteijn onderwerp : F-XX02

versie : 1 datum : 07-06-1993

voor akkoord : pagina : 2 van 3

3.22 BEPALING VAN FLUORIDE IN GEWAS VIA STANDAARDADDITIE

3.22.1 Onderwerp

Dit voorschrift beschrijft een methode voor de bepaling van fluoride in gedroogd gewas met behulp van een ionselectieve electrode.

3.22.2 Toepassing

Dit voorschrift is van toepassing op alle soorten gedroogde gewasmonsters. Het minimum gehalte dat bepaald kan worden bedraagt 0,025 mmol/kg luchtdroog gewas.

3.22.3 Principe

Door extractie van het gewas met salpeterzuur wordt fluoride in oplossing gebracht. De fluorideconcentratie van de suspensie wordt bepaald met behulp van een ionselectieve electrode. Door toevoegen van een bekende hoeveelheid fluoride verandert het mV-sigitaal evenredig aan de concentratie hiervan, waardoor het fluoridegehalte in het monster berekend kan worden. Een TISAB-buffer wordt toegevoegd om een constante ionensterkte te creëren.

3.22.4 Reagentia

Salpeterzuur 65 % geconcentreerd pa.

TISAB

- los 265 g ammoniumchloride pa, 53 g ammoniumacetaat pa, 19 g titriplex IV pa en 60 mg cresol rood pa. op in 400 ml water. Spoel over in een maatkolf van 1 l en vul aan met water.

Vulvloeistof

- Unicam RE15 reference electrode outer electrolyte filling solution

Hoofdstandaardoplossing fluoride, 100 mmol/l

Additiestandaard fluoride, 10 mmol/l

- Pipetteer 10,0 ml hoofdstandaardoplossing fluoride in een maatkolf van 100 ml en vul aan met water.

geschreven door : V.M.J. Korpel-Arkesteijn onderwerp : F-XX02-SA

versie : 1 datum : 07-06-1993

voor akkoord : pagina : 1 van 4

3.22.5 Apparatuur

Unicam 9460 ion-selective meter

Unicam IS-F fluoride electrode

Unicam RE15 reference electrode

Skalar penrecorder 7021

Magnetische roermotor met roermagneet en isolatiematje

3.22.6 Werkwijze

3.22.6 a voorbehandeling monsters

- Weeg 2,000 g luchtdroog gewas af en breng dit over in een bekersglas van 100 ml.
- Voeg 2,0 ml salpeterzuur 65 % geconcentreerd toe.
- Voeg 43 ml water toe en meng goed.
- Voeg 5,0 ml TISAB toe en meng goed.

3.22.6 b de meetmethode

- Vul de referentie-electrode bij met vulvloeistof.
- Spoel de elektroden schoon met water en maak ze droog.
- Zet de mV-meter en de penrecorder aan.
- Plaats de elektroden in de monsteroplossing en meet tot het signaal stabiel is; noteer dan de mV-waarde (E1).
- Voeg zoveel additiestandaard toe dat het verschil tussen E1 en de gemeten mV-waarde (E2) minimaal 15 mV bedraagt. Begin met steeds 50 ul, meng goed en wacht steeds tot het signaal gestabiliseerd is. Wanneer het signaal niet of nauwelijks verandert, doseer dan een grotere hoeveelheid additiestandaard (bv 250 of 500 ul). Noteer alle toegevoegde volumes en gemeten waarden.
- Voeg eenzelfde hoeveelheid additiestandaard toe als de totaal toegevoegde hoeveelheid bij E2, wacht tot het signaal stabiel is en noteer de mV-waarde (E3).
- Herhaal deze procedure voor de andere monsters.
- Zet de mV-meter en de penrecorder uit.
- De fluoride-electrode droog bewaren, de referentie-electrode bewaren in water.

geschreven door : V.M.J. Korpel-Arkesteijn onderwerp : F-XX02-SA

versie : 1 datum : 07-06-1993

voor akkoord : pagina : 2 van 4

3.22.7 Berekening

$$R = \frac{E3 - E1}{E2 - E1} = \frac{\log [(Cm + Cs) / Cm]}{\log [(Cm + 2 * Cs) / Cm]}$$

R = Verhouding tussen de berekende potentiaalverschillen

E1 = mV-waarde van het monster

E2 = mV-waarde van het monster na toevoegen van de eerste hoeveelheid additiestandaard

E3 = mV-waarde van het monster na toevoegen van de tweede hoeveelheid additiestandaard

Cm = fluorideconcentratie in de meetsuspensie in mol/l

Cs = eerste maal toegevoegde fluorideconcentratie in de meetsuspensie in mol/l

- Bereken Cs met de volgende formule:

$$Cs = \frac{Vt * Ca}{Vm + Vt} = \frac{Vt * 0,010}{50,0 + Vt}$$

Vt = totaal toegevoegd volume bij het meten van E2 in l

Ca = concentratie additiestandaard in mol/l (= 0,010 mol/l)

Vm = beginvolume van het monster in l (= 0,050 l)

- Bereken R en zoek in de tabel de bijbehorende waarde voor Cm/Cs.

- Bereken Cm door de Cm/Cs-waarde te vermenigvuldigen met Cs.

- Bereken het fluoridegehalte in het monster met de volgende formule:

$$x = \frac{Cm * V * Vf * 1.000.000}{I} = 25.000 * Cm * Vf$$

x = fluoridegehalte in het gewasmonster in mmol/kg stoofdroog gewas

Cm = fluoridegehalte in de meetsuspensie in mol/l

V = totaal volume meetsuspensie in l (= 0,050 l)

I = inweeg monster in g (= 2,000 g)

Vf = correctiefactor voor het vochtgehalte van het monster

- Corrigeer de resultaten voor het vochtgehalte.

- Gehalten kleiner dan 1 opgeven in 2 decimalen, gehalten groter dan 1 in 1 decimaal.

geschreven door : V.M.J. Korpel-Arkesteijn onderwerp : F-XX02-SA

versie : 1 datum : 07-06-1993

voor akkoord : pagina : 3 van 4
