Agrotechnological Research Institute (ATO-DLO)
P.O. Box 17, 6700 AA Wageningen, The Netherlands

Instituut voor
Agrotechnologisch
Onderzoek
ATO-DLO
Bornsesteeg 59
Postbus 17
6700 AA Wageningen

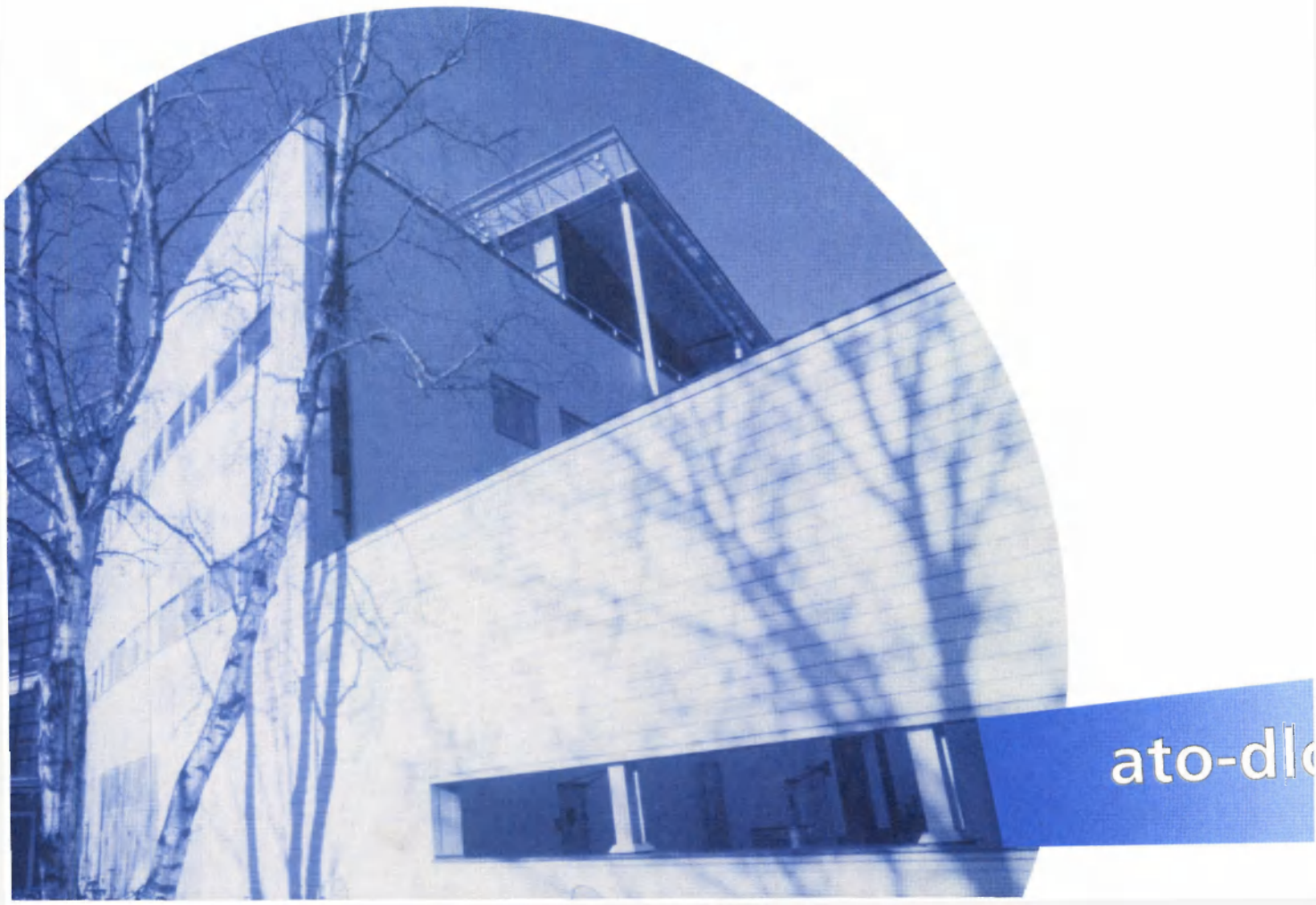
A167

Voorgangsrapportage september 1999

# Ontwikkeling van een snelle meetmethode voor pyrofosfaat ten behoeve van de aardappelverwekende industrie

Ir. E.S.A. Biekman
Ing. G.G.M. Bosch
Ir. B. Krebbers

**VERTROUWELIJK**



ato-dlo

Voortgangsrapportage september 1999

# Ontwikkeling van een snelle meetmethode voor pyrofosfaat ten behoeve van de aardappelverwerkende industrie

**VERTROUWELIJK**

**Instituut voor Agrotechnologisch Onderzoek (ato-dlo)**
Bornsesteeg 59
Postbus 17
6700 AA
Wageningen
tel. 0317.475000
fax. 0317.475347

Ir. E.S.A. Biekman
Ing. G.G.M. v.d. Bosch
Ir. B. Krebbers

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermeerderd of gedistribueerd zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

2251138

# Inhoud

**pagina**

**Samenvatting** ..... 3

**1. Achtergrond en doel van het project** ..... 4

*1.1 Probleemstelling* ..... 4

*1.2 Doel van het project* ..... 4

*1.3 Fasering* ..... 5

**2. Onderzoeksaanpak** ..... 6

*2.1 Experimentele opzet voor ontwikkeling van de meetmethode voor pyrofosfaat* ..... 6

**2.1.1 Werking van de geselecteerde testen in de pyrofosfaatdipunit in bedrijven** ..... 6

**2.1.2 Pyrofosfaat-additietesten** ..... 6

**2.1.3 Effect van additieven, verontreinigingen en uitgeloogde componenten** ..... 6

*2.2 Selectie analysemethoden voor pyrofosfaat* ..... 6

**2.2.1 Validatie van juistheid en precisie van de meetmethoden voor pyrofosfaat in een industriële dipunit.** ..... 6

**2.2.2 Effect van voorbehandeling monsters op pyrofosfaatbepaling** ..... 7

**3. Resultaten ontwikkeling at-line meetmethode** ..... 8

*3.1 Ontwikkeling van een "at-line" systeem : vaststellen van specifieke eisen* ..... 8

**3.1.1 Werking van de geselecteerde testen in de pyrofosfaatdipunit in bedrijven** ..... 8

**3.1.2 Keuze meetmethode** ..... 9

**3.1.3 Vaststellen van specifieke eisen van het meetsysteem** ..... 10

*3.2 Ontwikkeling at-line systeem: aanpassing, uitwerking en validatie in de industrie* ..... 11

**3.2.1 Selectie meetsysteem en andere benodigdheden** ..... 12

**3.2.1 Standaardisatie van de MV-methode in het geselecteerde meetsysteem** ..... 13

**3.2.2 Performance at-line methode in de industrie** ..... 17

*Test at-line meetmethode in industrie* ..... 19

**4 Ontwikkeling on-line systeem** ..... 21

*4.1 Inleiding* ..... 21

*4.2 Opstellen van een conceptueel model* ..... 21

**4.2.1 Opbouw van het totale meetsysteem** ..... 21

**4.2.2 Inventarisatie van procesvereisten en randvoorwaarden in relatie tot on-line leveranciers** ..... 22

**4.2.3 Inventarisatie omgevingsfactoren** ..... 23

**4.2.4 Oriëntatie van de mogelijkheden voor monstername en - voorbereiding** ..... 23

**4.2.5 Keuze on-line leverancier en kostenevaluatie** ..... 29

**5. Vervolgonderzoek** ..... 31

Bijlagen I t/m III

# Samenvatting

Het doel van dit project is het ontwikkelen van een snelle meetmethode om "at-line" pyrofosfaat in de dipunit in de aardappelverwerkende industrie te kunnen meten. Deze meetmethode zal de basis vormen voor de ontwikkeling van een "on-line" meetsysteem voor het pyrofosfaatgehalte in de dipunit. Dit project maakt deel uit van een onderzoeksprogramma dat ATO-DLO voor de Vereniging Aardappelverwerkende Industrie (VAVI) uitvoert, mede gefinancierd door het programma Milieutechnologie van NOVEM.

Het project is onderverdeeld in twee fasen. Fase 1 (duur 1 jaar) is inmiddels afgerond. Dit rapport beschrijft de resultaten van het eerste jaar van de tweede fase.

*1. At-line: vaststellen specifieke eisen*

- De fluctuatie van pyrofosfaat en fosfaat in de industrie werd gemeten. Hieruit bleek dat in sommige gevallen het verbruik van pyrofosfaat tot 60% verminderd worden en er dus ruimte voor verbeterde controle is.
- Na correlatie van de verschillende methoden aan de referentiemethode bleek de MV-methode qua nauwkeurigheid, precisie en gebruikersvriendelijkheid het best te voldoen aan de gestelde eisen. Deze methode werd geselecteerd als at-line meetmethode.
- Voor de plaats van monstername bleken geen specifieke eisen te hoeven worden vastgesteld. Monstervoorbereiding heeft weinig invloed op de at-line pyrofosfaatbepaling.

*2. At-line: aanpassing, uitwerking en validatie in bedrijfsomgeving*

- Voor de at-line meetmethode zijn een aantal bruikbare instrumenten geselecteerd, waaronder een draagbare spectrofotometer met analysekaart voor sofwarematige omrekening naar gehalte PP en P in gram per liter, golflengtefilter (410 nm) en een hydrolyseapparaat. De MV-methode is verder gestandaardiseerd en geoptimaliseerd in dit meetinstrument. Tevens werden de gemiddelde recovery (97±7%) en meetbereik (0.2 tot 10 g/l PP) bepaald. De verschillende experimentele handelingen zijn uitvoerig in een handleiding beschreven.
- De correlatiecoëfficiënt tussen het gemeten pyrofosfaatgehalte en het toegevoegde pyrofosfaat in aarappelmedia is 0.93±0.0009 ($R^2$ 99%). De samenstelling van het aardappelmedium blijkt een acceptabele invloed te hebben op het meetsysteem.
- Additieven, verontreinigingen en uitgeloogde componenten die kunnen voorkomen in de dipunit werden getest op hun invloed op de pyrofosfaatbepaling. Van deze componenten bleek alleen wei-eiwit een significant effect te hebben op de pyrofosfaatbepaling.
- De at-line test inclusief meetsysteem is klaar voor industrieel gebruik.

*3. On-line: vaststellen van specifieke eisen*

- Voor de ontwikkeling van het on-line meetsysteem op basis van de ontwikkelde at-line methode zijn enkele eisen en kritieke punten vastgesteld, met betrekking tot de robuustheid van het apparaat, hygiëne, meetnauwkeurigheid, analysetijd en type meetinstrument. Hieruit volgden een aantal selectiecriteria, waaronder kosten, flexibiliteit, applicatiegarantie en inzicht in monstervoorbereiding.
- Het on-line apparaat bestaat uit de volgende subsystemen: monsternamesysteem, monstervoorbereidingssysteem, vloeistoftransportsysteem, hydrolyse-unit, meetsysteem, natchemisch gedeelte, detectie-unit en signaalverwerking.
- Naar aanleiding van deze criteria zijn een aantal leveranciers van on-line meetapparatuur benaderd en enkele mogelijkheden voor monstervoorbereidingssystemen geïnventariseerd. Filtratie van dipunitmonsters is onder andere mogelijk met papierbandfiltratie, crossflowfiltratie en centrifugaal filters.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

# 1. Achtergrond en doel van het project

## 1.1 Probleemstelling

Grauwverkleuring is een ernstig kwaliteitsgebrek van voorgebakken frites. De potentie van de aardappel om grauw te verkleuren wordt bepaald door de grondstofkarakteristieken en het verwerkingsproces.

Grauwverkleuring wordt toegeschreven aan de reactie van ijzer met difenolen; in de aardappel is dit met name chlorogeenzuur. Er zijn ook aanwijzingen dat enzymatische reacties kunnen bijdragen aan grauwverkleuring. Deze enzymatische reactie is tot op zekere hoogte te voorkomen door intensiever te blancheren. Het meest effectieve middel om (niet-enzymatische) grauwverkleuring te voorkomen, is het dippen van de geblancheerde fritesstaafjes in een oplossing van pyrofosfaat.

De concentratie van pyrofosfaat in het dipbad en de potentie van de aardappelen om grauw te verkleuren bepalen samen het resultaat van de dipbehandeling. Momenteel gebeurt het toevoegen van pyrofosfaat op basis van een visueel oordeel van de voorgebakken frites. Hoewel dit tot op zekere hoogte zal leiden tot een goed product, is deze methode onbevredigend vanwege:

- slechte stuurbaarheid,
- weinig controle op effectiviteit van pyrofosfaat (kwaliteit van de frites),
- onnodige emissies van fosfaat in het milieu en extra belasting van afvalwaterzuivering.

De oorzaak van de meet- en regelproblematiek ligt in het feit dat pyrofosfaat niet stabiel is in het dipbad, maar onder invloed van temperatuur wordt afgebroken tot het inactieve orthofosfaat. Tot op heden is er geen betrouwbaar direct meetsysteem voor pyrofosfaat. Huidige labmethoden om pyrofosfaat te meten zijn gebaseerd op een verschilmeting, waarbij de orthofosfaatconcentratie bepaald wordt vóór en na enzymatische omzetting van pyrofosfaat tot orthofosfaat [1]. Omdat onder andere de kosten en de analyseduur van deze methode niet optimaal zijn, is voor toepassing in de aardappelverwerkende industrie verdere ontwikkeling van deze methode vereist.

## 1.2 Doel van het project

Ten behoeve van de aardappelverwerkende industrie wordt een instrumentele methode ontwikkeld voor het on-line meten van de pyrofosfaatconcentratie in de dipunit van de aardappelverwerkingslijn. Meting van pyrofosfaat in de dipunit staat indirect in relatie tot het meten van de potentie van de frites om grauw te verkleuren. In de eerste fase van dit project is een geschikt meetsysteem geselecteerd en gevalideerd op basis van de gestelde randvoorwaarden.

In het eerste jaar van Fase 2 zijn de geselecteerde methoden uit Fase 1 (nl. de molybdovanadaatmethode en de turbiditeitsmethode) verder geoptimaliseerd tot een snelle en gebruikersvriendelijke labexperimentele methode voor bepaling van pyrofosfaat at-line. At-line meten houdt in dat de monstername door een operator aan de proceslijn plaatsvindt en ter plekke of in het laboratorium geanalyseerd wordt.
Op basis van de nauwkeurigheid, meetbereik en bruikbaarheid van de reeds ontwikkelde methoden in de praktijksituatie is een uiteindelijke vorm van de methode gekozen worden.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

In het eerste jaar van Fase 2 is ook een start gemaakt met het inventariseren van de mogelijkheden voor het ontwikkelen van een geautomatiseerd on-line systeem. Dit houdt in dat instrumentele monstername aan de proceslijn plaatsvindt en opeenvolgend automatisch het gehalte pyrofosfaat gemeten wordt.
Het project is gericht op het voorkomen en/of reduceren van de milieubelasting door gebruik van pyrofosfaat.

## 1.3 Fasering

Dit project is onderverdeeld in twee fasen. Fase 1 is voltooid in juni 1998. In deze fase werden enkele directe en indirecte meetsystemen voor de bepaling van pyrofosfaat geselecteerd, getest en verder ontwikkeld voor toepassing van een snelle meetmethode in de aardappelverwerkende industrie.
De tweede fase van het project omvat een aantal activiteiten die nodig zijn voor praktische toepassing van de meetmethode. Dit rapport beschrijft de resultaten van het eerste jaar van Fase 2, waarin de volgende activiteiten te onderscheiden zijn:

2.1 Ontwikkeling van een "at-line" systeem voor pyrofosfaatmeting

2.1a Vaststellen van specifieke eisen van het " at-line" systeem, waaronder

- vaststellen van de fluctuatie en de performance in de industrie
- keuze van het meetsysteem
- specifieke eisen van het meetsysteem (plaats van monstername in de dipunit, monstervoorbereiding, monstergrootte en reagensverbruik)

Vervolgens wordt in onderdeel 2.1b de at-line meetmethode verder ontwikkeld, wat inhoudt het aanpassen, uitwerken en valideren in de industrie.
In deze fase zal de "at-line" test verder gevalideerd worden door metingen uit te voeren bij een aantal representatieve aardappelverwerkende bedrijven. Het doel van deze fase is het bereiken van optimale werking van de ontwikkelde meetmethode in de industriële omgeving en het aangeven van de mogelijkheden om de pyrofosfaat en fosfaat-concentratie beter te controleren gedurende processing.
Het geselecteerde reactieprincipe zal ingepast worden in een gebruikersvriendelijke methode geschikt voor "at-line" meting van pyrofosfaat en fosfaat in de aardappelverwerkende industrie. Hierin kunnen de volgende activiteiten onderscheiden worden:

- onderzoek van de meetmethoden in praktijkomgeving en met behulp van praktijkmonsters
- selectie van cuvettensysteem, destructie-apparatuur en spectrofotometer-type
- standaardisatie meetmethode(n) voor eenvoudige toepassing in praktijk
- vaststellen van de werkbaarheid van de "at-line" test in een continu proces van pyrofosfaatdosering en –verbruik en –omzetting: aanpassen meetmethode aan de hand van "at-line" metingen in de aardappelverwerkende industrie

2.2 Uitwerken van de "at-line" test tot een"on-line" systeem (evt betrekken van derde partner)

In het tweede jaar van Fase 2 zal de "at-line" methode methode ontwikkeld worden tot een "on-line" voor de meting van pyrofosfaat. Hiervoor zullen in het eerste jaar van Fase 2 reeds leveranciers van on-line apparatuur voor fosfaat en totaal fosfaat benaderd worden. Er zal onderzocht worden welke aanpassingen nodig zijn om de "at-line" test, ontwikkeld in 2.1, om te zetten in een on-line methode. Aan de hand van de resultaten uit onderdeel 2.1. en 2.2 zullen criteria opgesteld worden voor de selectie en verdere ontwikkeling van het "on-line" systeem.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

# 2. Onderzoeksaanpak

## 2.1 Experimentele opzet voor ontwikkeling van de meetmethode voor pyrofosfaat

### *2.1.1 Werking van de geselecteerde testen in de pyrofosfaatdipunit in bedrijven*

De fluctuatie van de pyrofosfaat- en fosfaatgehaltes werd vastgesteld in een vijftal bedrijven gedurende een aantal uur (direct aan de lijn). Tevens werd aan de hand van deze metingen de juistheid en precisie van de meetmethoden bepaald (zie par. 2.2.1). Het effect van monstervoorbehandeling op de nauwkeurigheid van de pyrofosfaatbepaling werd onderzocht m.b.v. deze monsters (zie par. 2.2.2).

### *2.1.2 Pyrofosfaat-additietesten*

Met de additietesten werd de invloed van uitgeloogde componenten op de pyrofosfaatbepaling vastgesteld. De bedrijfsmonsters werden gebruikt om pyrofosfaat in bekende hoeveelheden toe te voegen (+0.5 g/L; +2.5 g/L; +5.0 g/L; +7.5 g/L pyrofosfaat). Vervolgens werd de recovery van pyrofosfaat in deze monsters bepaald.

### *2.1.3 Effect van additieven, verontreinigingen en uitgeloogde componenten*

Er werden verschillende experimenten uitgevoerd om te onderzoeken of additieven, verontreinigingen en uitgeloogde componenten in het pyrofosfaatdipbad invloed hebben op de molybdovanadaatmethode voor bepaling van pyrofosfaat. Als additieven werden weipoeder (tot 10%), natriumsulfiet (tot 10 ppm)en dextrose (tot 2%) gebruikt. Deze additieven worden regelmatig gebruikt in de aardappelverwerkende industrie als regulator van de bruinverkleuring of als coating. Zetmeel werd tevens getest (tot 2%), aangezien het een belangrijke uitgeloogde component is. Natriumsilicaat is aanwezig in kraanwater en daarvan is bekend dat het tevens een complex met molybdaat kan vormen en daarmee storingen in de pyrofosfaatbepaling ten gevolge kan hebben. De invloed van silicaat op de pyrofosfaatbepaling werd getest tot concentraties silicaat van 82 mg/L (komt overeen met oplosbaarheidsgrens).

## 2.2 Selectie analysemethoden voor pyrofosfaat

### *2.2.1 Validatie van juistheid en precisie van de meetmethoden voor pyrofosfaat in een industriële dipunit.*

Op basis van de resultaten van de enquête over het gebruik van pyrofosfaat zijn een aantal bedrijven geselecteerd. Deze bedrijven zijn verzocht een aantal monsters te verzamelen, waarvan vervolgens op het ATO de pyrofosfaat- en de fosfaatgehaltes van bepaald werden. Tevens zijn enkele bedrijven bezocht waar gedurende de dag de pyrofosfaat- en fosfaatconcentratie in de dipunit at-line gevolgd werden. De pyrofosfaat- en fosfaatconcentratie werden bepaald volgens vier verschillende meetprincipes, nl. de molybdaatblauwmethode, titratiemethode, molybdovanadaatmethode en de turbiditeitsmethode. De reeds bestaande en gevalideerde molybdaatblauw-meetmethode werd gebruikt als referentie-methode voor de andere drie methoden. Voor de statistische analyse werden onderstaande methoden gebruikt.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

*1.* t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances analysis methode

Deze analysemethode voert een twee-sample student's t-test uit. Deze t-test veronderstelt dat gemiddelde waarden van beide data-sets gelijk zijn. De t-test werd gebruikt om te bepalen of de gemiddelde waarden van de data-sets wel of niet significant van elkaar verschillen. Hiervoor werden de absolute verschillen t.o.v. een gemiddelde waarneming tussen twee data-sets vergeleken. De vier methoden leverden elk een dataset op.

2. Regressie analyse methode
Deze analyse methode voert een lineaire regressie analyse uit door gebruik te maken van de "kleinste kwadraten" methode om een lijn te fitten door een set waarnemingen. Vervolgens kan geanalyseerd worden hoe een afhankelijke variabele beïnvloedt kan worden door een onafhankelijke variabele.

De juistheid van de methoden, d.w.z. de zuiverheid van de waarnemingen werd bepaald aan de hand van een regressie-analyse. In de statistische analyse werden de waarden verkregen via de titratiemethode, molybdovanadaatmethode en de turbiditeitsmethode, gecorreleerd aan de molybdaatblauwmethode, met behulp van een regressie-analyse met een 95% betrouwbaarheidsinterval. In een ideaal geval is het snijpunt van de regressielijn met de y-as 0 en de richtingscoefficient van de regressielijn 1. In dat geval is de conclusie dat de meetmethoden niet significant verschillend zijn (met een betrouwbaarheid van 95%) en de gemeten waarden juist zijn (in vergelijking met de referentie-methode).

### *2.2.2 Effect van voorbehandeling monsters op pyrofosfaatbepaling*

Praktijkmonsters afkomstig van verschillende fritesverwerkende industrieën werden op verschillende manieren voorbehandeld:
- filtratie met een Whatmann papierfilter (poriegrootte ~10µm)
- filtratie met een zeef (poriegrootte ~280µm)
- filtratie met 0.45 µm filter
- centrifugatie (10 minuten, 10.000 g bij 4°C)

Vervolgens werd in het filtraat of supernatant het gehalte pyrofosfaat bepaald volgens de molybdovanadaatmethode en vergeleken met een controle (geen voorbehandeling).
De Student-t-test werd gebruikt voor statistische analyse van de resultaten (zie par 3.1.3).

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

# 3. Resultaten ontwikkeling at-line meetmethode

## 3.1 Ontwikkeling van een "at-line" systeem : vaststellen van specifieke eisen

### *3.1.1 Werking van de geselecteerde testen in de pyrofosfaatdipunit in bedrijven*

De variatie in de procescondities, zoals in dipbadvolume, massastroom frites, dipbadtemperatuur en afmetingen van de frites heeft mogelijk invloed op de fluctuaties in pyrofosfaat (PP)- en fosfaat(P)concentratie (en de aanwezige verstoringen door uitgeloogde aardappelcomponenten). Teneinde dit vast te stellen werd in samenwerking met enkele fritesverwerkende bedrijven de pyrofosfaat- en fosfaatranges en fluctuaties in de gehaltes in kaart gebracht. Het testen van de methoden onder verschillende praktijkcondities heeft het doel om vast te stellen in welk opzicht de methoden aangepast moeten worden en welke methode het meest geschikt is voor bepaling van pyrofosfaat.
In aansluiting op een enquête zijn enkele bedrijven benaderd om metingen te doen aan de dipunit. Het doel was het vaststellen van (pyro)fosfaat fluctuaties in het dipbad en van de performance van de vier geselecteerde systemen. Resultaten zijn samengevat in tabel 1.

Tabel 1. Bedrijfsmetingen; parameters van de pyrofosfaat- en fosfaat-bepaling (g/L)

| Bedrijf | Type meting | n | Range in concentratie PP dipunit (g/L) | | Gemiddeld +/- fluctuatie [a] | | | | MV-methode | TU-methode |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | min | max | PP g/L | +/- % | P g/L | +/- % | VC [b] (%) | VC (%) |
| 1 | at-line | 5 | 0.2 | 7.2 | 5.8 | 19 | 1.1 | 14 | 2.5 | 4.9 |
| 2 | at-line | 5 | 7.2 | 9.1 | 8.1 | 8.7 | 1.2 | 16 | 2 | 8.2 |
| 3 | at-line | 10 | 2.7 | 5.8 | 3.9 | 25 | 1.5 | 12 | 9.9 | 4.5 |
| 4 | at-line | 5 | 0.7 | 8.7 | 5.3 | 60 | 1.6 | 13 | 6.1 | 3.5 |
| 5 | ATO | 4 | 3.6 | 13.6 | 8 | 52 | 1.9 | 8.3 | 3 | 4.8 |
| 6 | ATO | 4 | 7.7 | 14.2 | 11.5 | 24 | 1.2 | 11 | 10 | 10.3 |
| 7a | ATO | 4 | 4.2 | 6.1 | 5.1 | 15.5 | 1.4 | 3.5 | 3.4 | 7.0 |
| 7b | ATO | 4 | 2.8 | 3.9 | 3.4 | 16 | 1.4 | 10.7 | 7.4 | 4 |

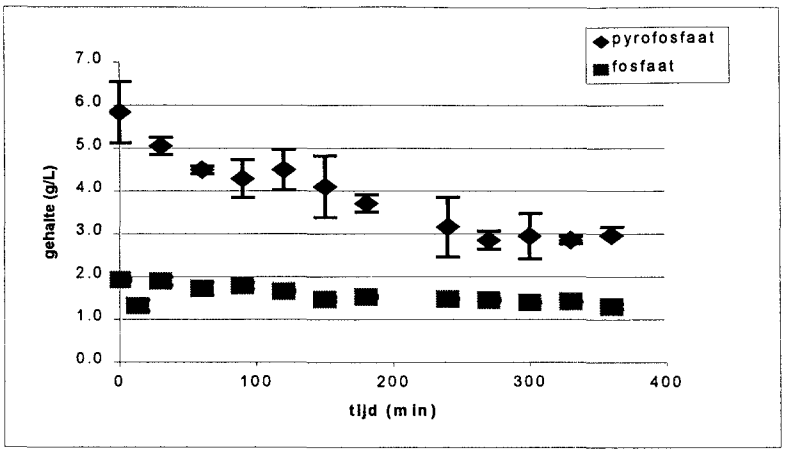
[a] gemeten concentratie in de dipunit gedurende een meetduur van ± 6 uur
[b] VC= gemiddelde variantiecoëfficiënt van de methode

Uit deze tabel en gesprekken met de bedrijven blijkt het volgende:

- De pyrofosfaat-dosering in de dipunit vindt momenteel plaats afhankelijk van de bedrijfsstrategie; sommige bedrijven hanteren een minimale dosering teneinde fosfaatemissies te reduceren, andere bedrijven doseren maximaal om grauwverkleuring volledig uit te sluiten.
- De afwijking van het gemiddelde gehalte gemeten pyrofosfaat is 9 tot 60%, terwijl andere ingestelde procesparameters (zoals snit, ras, temperatuur dipunit etc.) constant werden verondersteld. Dit houdt in dat de afstemming van het pyrofosfaatgehalte in de dipunit slecht gecontroleerd is. In sommige gevallen kan het verbruik van pyrofosfaat dus zelfs met minstens 60% verminderd worden.
- In enkele gevallen overschrijdt de pyrofosfaatconcentratie de kritische kwaliteitsgrens van 10 g/L, wat de smaak nadelig kan beïnvloeden.
- De relatieve nauwkeurigheid van de molybdovanadaat (MV)- en de turbiditeits (TU)-methode is 2-10%. Zowel de MV- als de TU- methoden voldoen hiermee aan de gestelde nauwkeurigheidsnorm.

In figuur 1 is voor één van de bedrijven weergegeven hoe de pyrofosfaat- en fosfaatconcentratie verandert als functie van de tijd.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*




Figuur 1. (pyro)fosfaat-gehalte als functie van de tijd in bedrijf X

Het fosfaatniveau is ca. 30 tot 40% gedaald en het gehalte pyrofosfaat is over een tijdsduur van drie uur meer dan 50% is gedaald. Door in de toekomst een aantal snelle metingen van pyrofosfaat te verrichten, kunnen deze veranderingen in kaart worden gebracht. Vervolgens kan hierop ingespeeld worden door de dosering aan te passen.

### *3.1.2 Keuze meetmethode*

In het vorige rapport is geconcludeerd dat de MV- en de TU-methode het meest interessant zijn om verder te ontwikkelen. Deze conlsusie wordt in deze paragraaf verder onderbouwd door het meten van pyrofosfaatgehalten van een aantal bedrijfsmonsters. In een vijftal bedrijven werd de pyrofosfaatconcentratie bepaald volgens:

1) de molybdaatblauwmethode via enzymatische hydrolyse van pyrofosfaat (MB),
2) de ontwikkelde en gestandaardiseerde molybdovanadaatmethode via zure hydrolyse van pyrofosfaat (MV),
3) de titratiemethode (TI),
4) de ontwikkelde en gestandaardiseerde turbiditeitsmethode (TU).

De MV-, TI en TU-methode werden vervolgens elk vergeleken met de MB-methode. De MB-methode werd, vanwege de enzymatische specificiteit voor pyrofosfaat, gebruikt als referentiebepaling. De gebruikte statistische methoden voor de bepaling van de juistheid t.ov. de MB-methode staan beschreven in par 2.2.1. De resultaten staan samengevat in tabel 2.

Tabel 2: Vergelijking van de MV-, TI en TU-methoden met de MB-methode met behulp van lineaire regressie. -: de methode is niet significant verschillend van de referentiemethode. +: de methode is significant verschillend van de referentiemethode.

| Bedrijf | MV-methode | TU-methode | TI-methode |
|---|---|---|---|
| A | - | + | + |
| B | -[a] | -[a] | |
| C | - | | |
| D | - | | |
| E | + | | |
| F | - | + | +[a] |

a, Student-t-test

Hieruit blijkt dat de MV-methode in bijna alle bedrijfsmetingen niet significant verschillend is van de MB-methode.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

Op basis van bovenstaande resultaten en de resultaten m.b.t. de nauwkeurigheid uit tabel 1 is besloten dat voor aanpassing en ontwikkeling van de at-line methode verder wordt gegaan met de MV-methode, aangezien:

1) zowel fosfaat als pyrofosfaat gemeten kan worden,
2) het reactiesysteem verder vereenvoudigd kan worden,
3) deze het best voldoet aan de eisen van nauwkeurigheid en juistheid, ook in bedrijfsmonsters en
4) geautomatiseerde methoden voor meting van fosfaat in afvalwater ook gebaseerd zijn op dit principe.

### *3.1.3 Vaststellen van specifieke eisen van het meetsysteem*

**Plaats van monstername in de dipunit**

Nagegaan werd of het dipbad ideaal gemengd is, of dat er sprake is van een (pyro)fosfaat-gradiënt. Dit is met name van belang voor bedrijven die in poedervorm doseren.
In enkele bedrijven is op verschillende plaatsen in de dipunit de pyrofosfaatconcentratie gemeten (tabel 3).

Tabel 3: Relatieve concentratie pyrofosfaat (t.o.v. de transportgoot voor de frites van de dipunit af) op verschillende plaatsen in de dipunit

| | **bedrijf A** | **bedrijf B** | **bedrijf C** |
|---|---|---|---|
| type dosering | vast | vast | vloeibaar |
| | relatieve concentratie(%) | | |
| doseerunit | 103 ± 3 | 115 ± 3 | 104 ± 6 |
| pompunit | 99± 4 | nvt | nvt |
| transportgoot | 100 ± 5 | 100 ± 4 | 100 ± 3 |

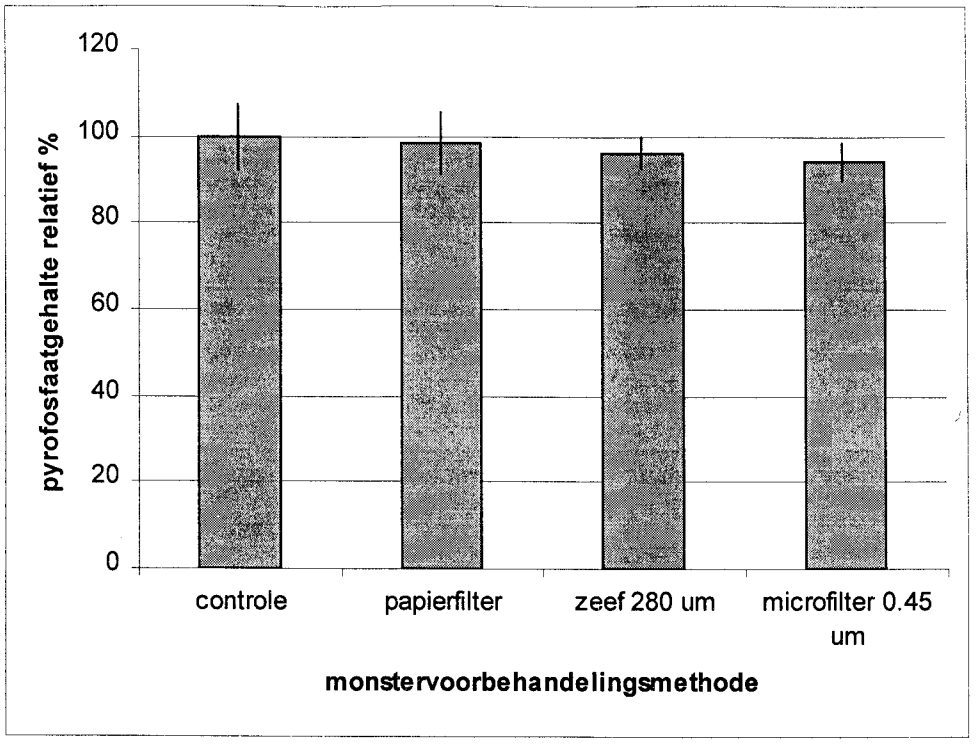
Uit deze tabel blijkt dat er over het gehele dipsysteem slechts een geringe variatie in pyrofosfaatconcentratie aanwezig is. Bij een relatief hoge dosering, blijkt dat de concentratie in de doseerunit significant hoger is (bedrijf B). Op basis van deze resultaten kan geconcludeerd worden dat bemonstering van de dipunit op elke willekeurige plek kan plaatsvinden.

**Monstervoorbereiding ten behoeve van at-line en on-line systeem**

De monsters afkomstig uit het pyrofosfaatdipbad behoeven mogelijk verdunning of filtratie, om de variantie in de metingen verder te reduceren. Het is de bedoeling dat de meetmethode zodanig wordt ontwikkeld dat deze voorbehandelingen tot een minimum beperkt worden.
Voor de on-line meetmethode is het van belang dat een filtratiestap wordt toegepast, om ophoping van onoplosbare deeltjes in dode hoeken van het systeem zoveel mogelijk te voorkomen. Bij on-line toepassing zijn harde deeltjes een belemmering voor de werking van de pompkleppen; zachte onopgeloste deeltjes zoals celresten zullen bij een goed spoelsysteem geen probleem vormen voor de werking van de kleppen.

Enkele praktijkmonsters zijn op verschillende manieren voorbehandeld, waarna de pyrofosfaatconcentratie bepaald is. Het bleek dat de pyrofosfaatconcentratie van een voorbehandeld monster, respectievelijk met papierfiltratie (10 µm, n=20), zeven (280 µm, n=8) en centrifugeren (n=15) niet significant verschillend is t.o.v. de controle (geen voorbehandeling).
Hieruit kan geconcludeerd worden dat dat door filtratie of centrifugatie geen pyrofosfaat weggevangen wordt, bijvoorbeeld door binding van pyrofosfaat aan onopgeloste deeltjes. Dit houdt in dat voorbehandelingen, zoals filtratie, niet vereist zijn voor een betrouwbare at-line bepaling van pyrofosfaat.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*




Figuur 2 Effect van filtratiemethode op de relatieve pyrofosfaatconcentratie (t.o.v. controle, waarvan de gemiddelde waarneming op 100% werd gesteld).

**Monstergrootte en reagensverbruik**
Aangezien bedrijfsmonsters troebel en mogelijk visceus zijn, zal de monstergrootte hierop aangepast moeten worden om aan de eisen van nauwkeurigheid te voldoen. Daarnaast zal gestreefd worden naar een zo laag mogelijk reagensverbruik per monster.
De monstergrootte en het reagensverbruik werden geoptimaliseerd met betrekking tot nauwkeurigheid en gebruikersvriendelijkheid.

Enkele testen werden uitgevoerd met verschillende monstergroottes (tabel 6).

Tabel 4: Invloed van monstergrootte op de nauwkeurigheid (VC= variantiecoëfficient).

| Monstergrootte | Gem. VC duplo's (%) | Gem. recovery series (%) | Gem. VC series (%) |
|---|---|---|---|
| 60 uL | 3.6 | 96 | 8 |
| 200 uL | 10 | 130 | 15 |

Het blijkt dat een grotere monsterhoeveelheid een afwijkende recovery heeft en hogere variantiecoëfficiënten voor zowel de duplo's als de totale series. Daarnaast leveren grotere volumes vertragingen door langere voorverwarmtijden. Er kan volstaan worden met een monstergrootte van 60 µL. Een monstergrootte van 50 µL werd gekozen als standaard volume, vanwege de hanteerbaarheid in standaardpipetten.

## 3.2 Ontwikkeling at-line systeem: aanpassing, uitwerking en validatie in de industrie

In dit onderdeel werd de "at-line" test verder gevalideerd door metingen uit te voeren bij een aantal representatieve aardappelverwerkende bedrijven. Op grond van deze resultaten werd het meetsysteem verder geoptimaliseerd en gestandaardiseerd tot een industrieel eenvoudig toepasbare standaardmethode.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

### 3.2.1 Selectie meetsysteem en andere benodigdheden

Bij de keuze van een geschikt meetsysteem werd rekening gehouden met de volgende randvoorwaarden:

- type meetsysteem en flexibiliteit voor inbouw pyrofosfaat-test
- cuvettensysteem
- nauwkeurigheid
- kosten (investeringskosten en kosten per test); prijs/prestatieverhouding
- benodigd opleidingsniveau
- nauwkeurigheid
- compactheid
- veiligheid en reagens verbruik
- weergave van de resultaten (mogelijkheden voor analysekaart)

De MV-methode werd gestandaardiseerd door het inpassen in een gebruikersvriendelijke at-line test in de vorm van een cuvettentest, bestaande uit:

- een spectrofotometer met golflengtefilter en analysekaart
- een destructie-unit

Spectrofotometer en bijbehorende onderdelen

Voor de levering van de standaard spectrofotometer en benodigde instrumenten is gekozen voor 'Visser Vogelzang Chemie' (Barendrecht).
De spectrofotometer (typenr. ET 100) heeft een aantal mogelijkheden:

- men kan een eigen methode implementeren bij elke gewenste golflengte tussen 320 en 1000 nm
- het gebruik van standaardcuvetten met een groot volume (15 mL)
- gunstige prijs/kwaliteit verhouding
- compact
- softwarematige omrekening van extinctie-eenheden naar concentratie
- voldoende interne nauwkeurigheid (2%)

Enkele specificaties van de apparatuur staan beschreven in tabel 7.

Tabel 5: Specificaties van de draagbare spectrofotometer type ET100

| | |
|---|---|
| golflengtefilter | 410 nm |
| extinctiebereik | -0.7 tot 1.3 |
| weglengte buizen | 16 mm |
| totaal volume cuvet | 15 mL |
| interne nauwkeurigheid | 2% |
| pyrofosfaatbereik | tot 10 g/L PP |

Destructie-apparaat

Hydrolyse van de monsters kan plaatsvinden in een compact destructie-apparaat (typenr. ET 108) bij een temperatuur van 100°C.

Het gebruik van deze apparaten staat beschreven in de bijgevoegde handleiding (Bijlage I en II).

Een overzicht van de kosten van de verschillende benodigde onderdelen, om de MV-methode te kunnen uitvoeren, is weergegeven in tabel 6.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

Tabel 6 Investeringskosten voor onderdelen voor MV-methode

| | **kosten (Hfl.)** |
|---|---|
| hydrolyse-unit | 1000 |
| ET 100 spectrofotometer | 2280 |
| golflengtefilter | 140 |
| cuvetten* (25 stuks) | 50 |
| chipanalysekaart | 94 |
| totaal | 3570 |

*herbruikbaar

Een selectie is gemaakt van een aantal standaard chemicaliën, lettende op de prijs en de bruikbaarheid.

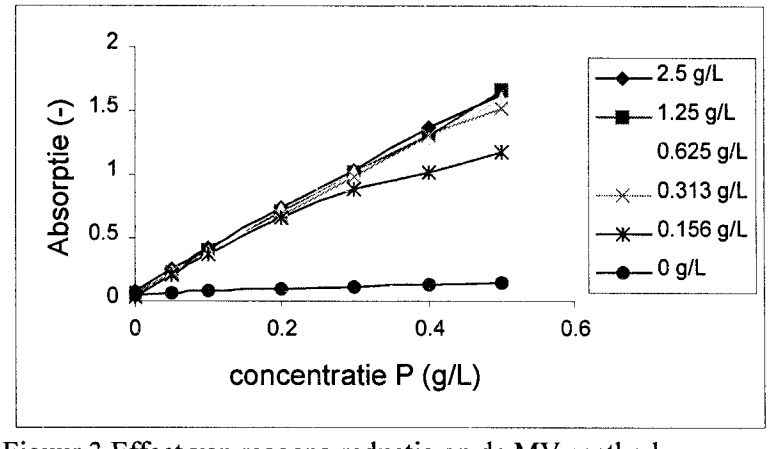
Tabel 7 Kosten en afvalproductie op jaarbasis (bij een analysefrequentie van 4 keer per uur, 24 uur per dag, 6 dagen per week) de gestandaardiseerde MV-methode

| | **kosten (Hfl.)** | **afval productie** |
|---|---|---|
| reagens $H_2SO_4$ (96%) | 80 | 6 L |
| ammonium molybdaat | 660 | 4.3 kg |
| ammonium vanadaat | 110 | 0.22 kg |
| hydrolyse $H_2SO_4$ (30%) | 30 | 2.2 L |
| totaal | 871.0 | |

### 3.2.1 Standaardisatie van de MV-methode in het geselecteerde meetsysteem

**Reductie chemicaliënverbruik**

Tijdens de bepaling van pyrofosfaat en totaal fosfaat met de molybdovanadaatmethode wordt een hoeveelheid ammoniumvanadaat gebruikt. Ammoniumvanadaat is toxisch (zie bijlage II) en bovendien relatief vrij duur.
Reductie van het reagens werd getest in de standaard MV-methode.



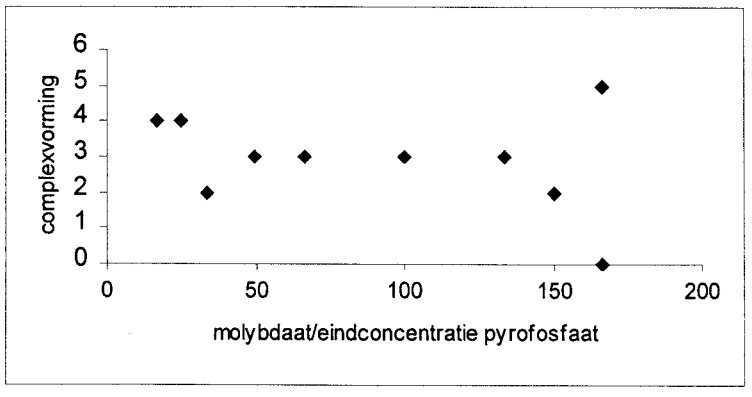

Figuur 3 Effect van reagens-reductie op de MV-methode

In figuur 3 is te zien dat tot een vier keer zo lage hoeveelheid vanadaat t.o.v. de initiële condities (2.5 g/l) geen effect heeft op het gevormde kleurcomplex. Een nadeel is dat er bij lagere concentraties een vertraging van de kleuring optreedt. Bij 2.5 g vanadaat/liter duurt de complexvorming ongeveer 5 seconden. Bij een concentratie van 0.313 g/L neemt de complexvorming ongeveer 50 seconden in beslag voordat de absorptietoename een eindpunt bereikt. Een halvering van de vanadaatconcentratie tot 1.25 g/L resulteert nog in een acceptabel snelle complexvorming van 10 seconden en is dus zonder gevolgen voor de reactietijd en de gevoeligheid van de at-line test.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

**Aanpassing van verhoudingen reagentia**

Door variatie in de verhouding molybdaat:eindconcentratie pyrofosfaat kan een groter initieel monstervolume toegepast worden. De verschillende geteste verhoudingen en de mate van de complexvorming staan weergegeven in figuur 4.

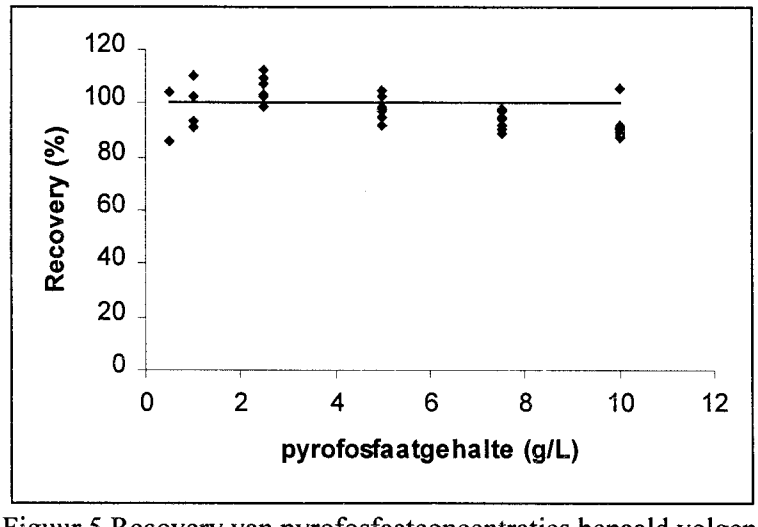



Figuur 4 Molybdaat:eindconcentratie pyrofosfaat en de mate van complexvorming. (0:slechte complexvorming, gepaard gaande met troebeling of overschrijding absorptielineairiteit/ 5: goede complexvorming).

Uit figuur 4 blijkt dat andere verhoudingen een troebeling geven of de maximum absorptie overschrijden. De standaardverhoudingen, zoals beschreven in de handleiding, kunnen niet worden aangepast zonder gevolgen voor meetrange of complexstabiliteit.

**Bepaling van de recovery en het meetbereik van pyrofosfaat in het gestandaardiseerd meetsysteem**

IJklijnen van pyrofosfaat werden getest met de gestandaardiseerde en geoptimaliseerde MV-methode en de ET 100 spectrofotometer en bijbehorende hydrolyse-unit. De resultaten staan weergegeven in figuur 5.




Figuur 5 Recovery van pyrofosfaatconcentraties bepaald volgens de MV-methode en ET 100 spectrofotometer.

Uit figuur 5 blijkt dat de de recovery afneemt bij hogere pyrofosfaatconcentratie. Een verklaring hiervoor is dat naast fosfaat ook pyrofosfaat een complex kan vormen met molybdovanadaat, wat met name een bijdrage levert bij hogere concentraties pyrofosfaat. Met deze bijdrage zal rekening gehouden moeten worden bij de ontwikkeling van een analysekaart voor omrekening

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

van absorptie naar gehalte pyrofosfaat. De gemiddelde recovery is 97% (± 7 %) voor concentraties tot 10 g/L en voldoet hiermee aan de gestelde normen voor nauwkeurigheid. Een nauwkeurigheid van 5 tot 10% is in deze fase voldoende voor een goede beheersbaarheid. Hogere concentraties dan 10 g/L pyrofosfaat geven een recovery die consistent lager is dan 90%. In huidige vorm van het meetsysteem is het meetbereik tot 0.2 tot10 g/L pyrofosfaat. Voor concentraties lager dan 0.18 g/L pyrofosfaat werd geen lineair verband tussen concentratie en absorptie vastgesteld.

**Standaardisatie van het gebruik van reagentia**

In dit onderdeel werd de stabiliteit van de reagentia getest als functie van de bewaarduur. Het gebruikersgemak werd verhoogd door de te gebruiken reagentia molybdaat, vanadaat, water, salpeterzuur en zwavelzuur samen te voegen in één reagens dat vervolgens met behulp van een dispenser aan de monstercuvet kan worden toegevoegd. De nauwkeurigheid van deze combinatie werd vergeleken met de nauwkeurigheid van de meetmethode na toevoeging van de verschillende reagentia afzonderlijk (tabel 8). De nauwkeurigheid werd bepaald door lineaire regressie van de absorptie als functie van de fosfaatconcentratie en wordt uitgedrukt als omrekeningsfactor, getest over een duur van 6 maanden.

Tabel 8 Omrekeningsfactor (OF), standaardfout en bewaarduur van reagentia

| | **n** | **OF ± se** | **Bewaarduur** |
|---|---|---|---|
| P-serie (reagens gescheiden) | 48 | 0.28 ± 0.004 | 6 maanden |
| P-serie (reagens samengevoegd) | 104 | 0.27 ± 0.002 | 6 maanden |

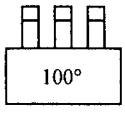
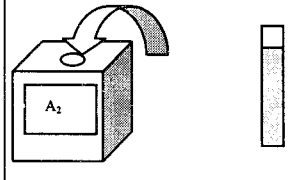
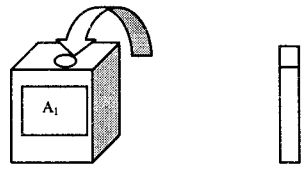
Uit tabel 8 blijkt dat de reagentia gecombineerd kunnen worden zonder achteruitgang in nauwkeurigheid of houdbaarheid
Voor de ontwikkeling van een gebruikersvriendelijke "at-line" test is een stabiel reagens nodig, zodat de omrekeningsfactor naar concentratie pyrofosfaat constant blijft. Doel is het produceren van een universele ijklijn die slechts incidenteel gecheckt hoeft te worden. De vastgestelde omrekeningsfactor en bijbehorende standaardfout voor het combinatie-reagens werd gebruikt als rekenfactor op de softwareprogrammering voor de analysekaart, speciaal ontwikkeld voor direct aflezen van het actuele pyrofosfaat- en fosfaatgehalte in gram per liter in de dipunit.

**Overzicht van de handleiding**

In onderstaand schema staat de gestandaardiseerde methode weergegeven. De handleiding staat tevens beschreven in bijlage I en II. Tijdens de analyse van een dipwatermonster lopen twee bepalingen parallel: totaal fosfaat (Mtp) en fosfaat (Mp) worden bepaald in afzonderlijke cuvetten. Het verschil in absorptie van deze cuvetten na omrekening is de pyrofosfaatconcentratie. Een bovenaanzicht van het meetsysteem staat weergegeven in figuur 6. Voor de bepaling van het gehalte pyrofosfaat dienen de reactiecuvetten voor Mtp en Mp geplaatst te worden in respectievelijk cuvettenschacht 5 en 4. Het meten van Mp t.o.v. een blanco monster (vervangen van monster door water) resulteert in het gehalte fosfaat; de reactiecuvetten Mp en blanco monster worden dan geplaatst in respectievelijk cuvettenschacht 5 en 4.

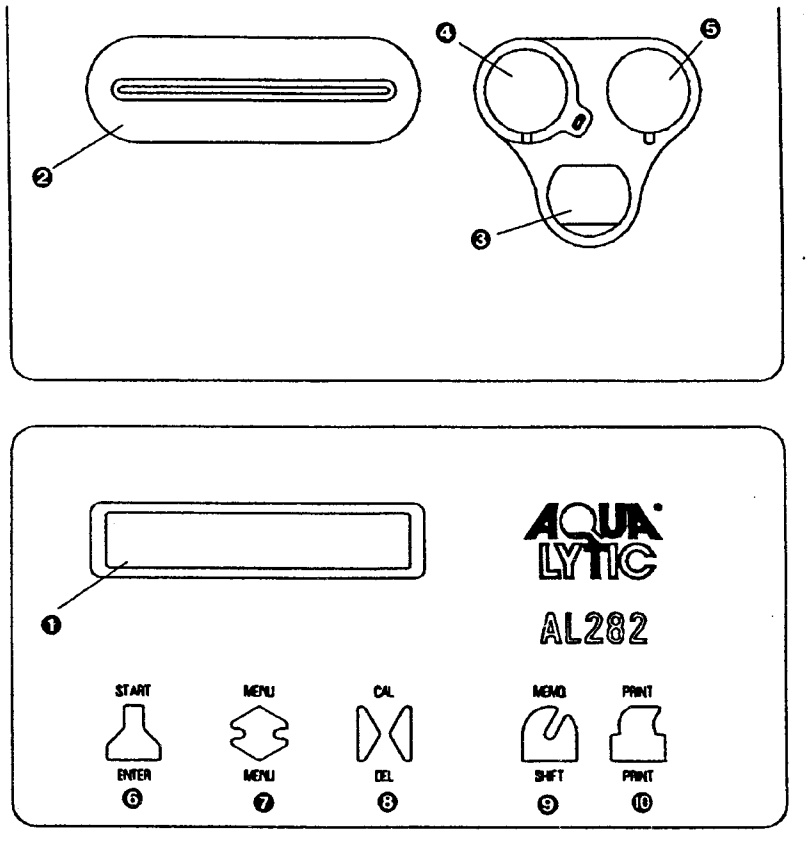
*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

Schema 1

| **Behandeling** | **Monster $M_{TP}$ = totaal fosfaat** | **Monster $M_P$ = fosfaat** |
|---|---|---|
| *Monstername* | *50 µL** | *50 µL** |
| *Destructie (100°C, 5 min.)* |   *Omzetting van pyrofosfaat/fosfaat + DR [a] → totaal fosfaat* | *niet van toepassing* |
| *Kleuring (25-30°C, direct)* |  *totaal fosfaat + MV-reagens* |  *fosfaat+MVreagens* |
| *Meting absorptie (410 nm) (20°C, direct)* |   |   |
| *Berekening:* | *$(A_{TP}-A_P)$* OF [b] = gehalte pyrofosfaat (g/L) [c]* | |

[a] DR=destructie-reagens
[b] OF=omrekeningsfactor
[c] bij aanschaf analysekaart vindt een directe omrekening van absorptie-units naar g/L (pyro)fosfaat plaats

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*




1. display
2. gleuf voor analysekaart
3. filterschacht
4. cuvettenschacht voor monster
5. cuvettenschacht voor referentie
6. start
7. menu
8. calibratie
9. memo
10. print

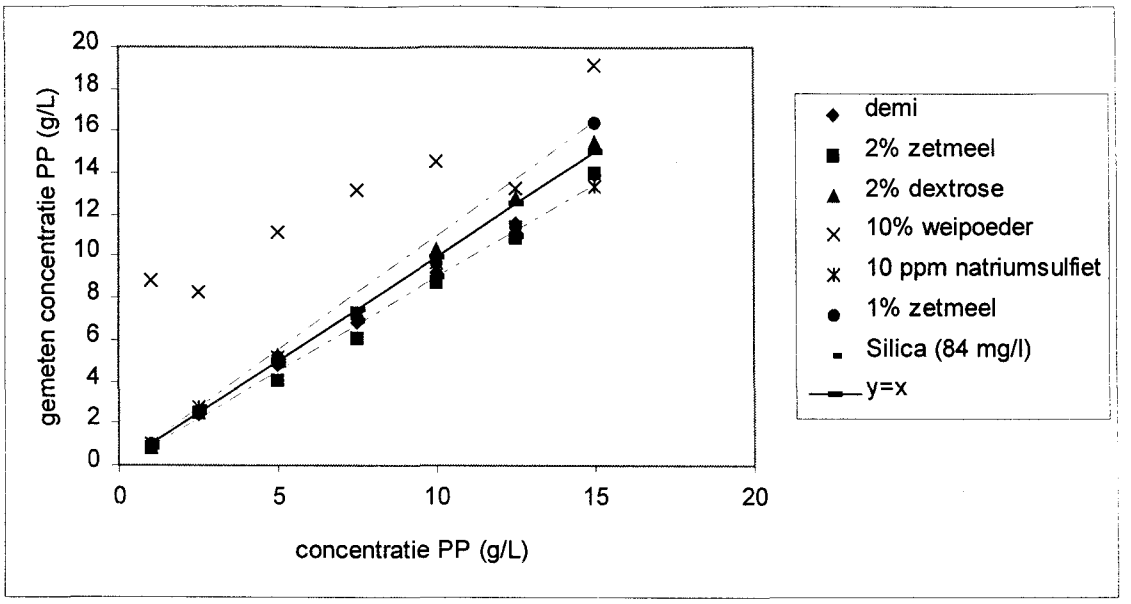
Figuur 6 Bovenaanzicht van ET 100 spectrofotometer.

### 3.2.2 Performance at-line methode in de industrie

Het doel van dit onderdeel is het bereiken van optimale werkbaarheid van de ontwikkelde meetmethode in de industriële omgeving en het aangeven van de mogelijkheden om de pyrofosfaat en fosfaat-concentratie beter te controleren gedurende processing.

**Invloed additieven, verontreinigingen en uitgeloogde componenten**

In sommige producten wordt naast pyrofosfaat ook dextrose, sulfiet of wei-poeder toegevoegd als regulator van de bruinverkleuring. Uitgeloogd zetmeel afkomstig van de frites is een van de belangrijkste componenten die aanwezig is in het dipwater. Zetmeel en additieven hebben mogelijk een invloed op de bepaling van pyrofosfaat en fosfaat met de MV-methode. Daarnaast kunnen silicaten, die van nature in kraanwater voorkomen, een complex vormen met molybdaat en daarmee de absolute fosfaat en pyrofosfaat bepaling beïnvloeden. De invloed van verschillende componenten is weergegeven in figuur7.



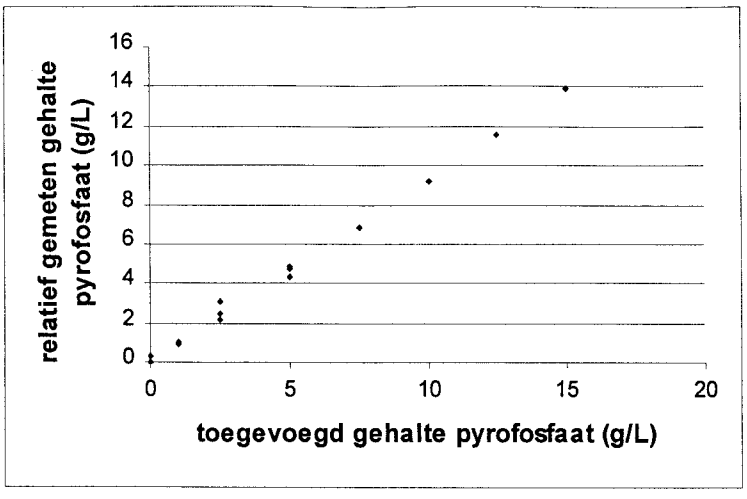

Figuur 7: Invloed additieven, verontreinigingen en uitgeloogde componenten op de MV-methode

Weipoeder blijkt een grote invloed op de pyrofosfaatbepaling te hebben. Tijdens het verhitten ontstond er een troebeling, waarschijnlijk afkomstig van eiwitten in het weipoeder die onder invloed van de hoge temperatuur en de lage pH gedenatureerd werden. De sterke overschatting van de pyrofosfaatconcentratie zou tevens veroorzaakt kunnen worden door fosfaten van nature aanwezig in weipoeder; daarin kunnen fosfaatgehaltes oplopen tot 2%.
Bij toevoeging van 2% zetmeel werd de concentratie pyrofosfaat onderschat (tot 20% bij enkele metingen). De verwachte gehaltes zetmeel in dipwater liggen echter veel lager: ongeveer 0.5%.

**Storing vaste deeltjes**
In paragraaf 3.1.3 is geconcludeerd dat filtratie of centrifugeren van enkele praktijkmonsters geen invloed heeft op de bepaling. De verstrooiing veroorzaakt door onopgeloste deeltjes is dus minimaal.

**Metingen in de industriële dipunit**
De werking van de geoptimaliseerde MV-meetmethode in industriële monsters werd bepaald door middel van een additietest. De invloed van de aardappelmatrix op de bepaling van pyrofosfaat werd onderzocht door aan een dipmonster een bekende hoeveelheid pyrofosfaat toe te voegen en vervolgens het totale pyrofosfaatgehalte te bepalen (figuur 8).

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

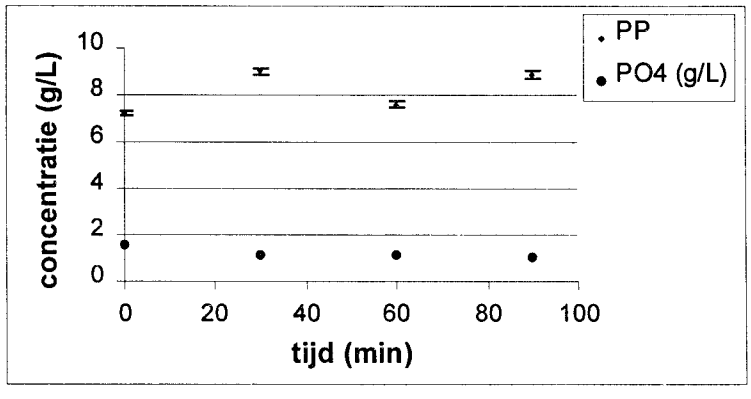



Figuur 8 Correlatie tussen PP-gehalte gemeten met het geoptimaliseerd systeem en het toegevoegde PP in aardappelmedia.

Uit lineaire regressie-analyse van de data weergegeven in figuur 8 blijkt dat 93% (± 0.9%) van het toegevoegde pyrofosfaat in de geoptimaliseerde methode werd gemeten. Het percentage verklaarde variantie ($R^2$) van dit regressiemodel is 99%. Het aardappelmedium blijkt een beperkte, maar acceptabele invloed te hebben op de nauwkeurigheid van het meetsysteem. De lagere recovery dan 100% van pyrofosfaat kan in principe ook veroorzaakt worden doordat de gebruikte pyrofosfaatgrondstof niet 100% zuiver is.
De standaardfout van de meetmethode na herhaalde meting (n=8) van hetzelfde monster was 1.6%.

**Test at-line meetmethode in industrie**

De geoptimaliseerde at-line meetmethode werd getest in een industriële dipunit. Resultaten van de fosfaat- en pyrofosfaatanalyse staan weergegeven in figuur 9.




Figuur 9: Pyrofosfaat- en fosfaatgehalte als functie van de tijd in bedrijf X

In bedrijfsomgeving was het mogelijk om binnen een kwartier (minimaal 7 minuten) een fosfaatmeting en een totaal hydrolyseerbaar fosfaatmeting uit te voeren, waaruit direct de concentratie pyrofosfaat volgt. De nauwkeurigheid van de bepaling in dit bedrijf was 1.5%.

De temperatuur en pH van het dipunitmonster heeft geen invloed op de meetmethode omdat het monster met een begintemperatuur van 60 tot 80°C wordt verdund in een zuur milieu met een

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

temperatuur van 90-95°C, waardoor het monster voor pyrofosfaathydrolyse in enkele seconden op temperatuur zal zijn.

Verdunning van het gehydrolyseerde monster in het kleurreactiemengsel kan vervolgens de temperatuursprong naar 20-25°C, gestandaardiseerd voor kleuring van fosfaat, in enkele seconden overbruggen.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

# 4 Ontwikkeling on-line systeem

## 4.1 Inleiding

Het doel van het ontwikkelen van een on-line meetsysteem om pyrofosfaat in de dipunit te kunnen meten is om betere controle te krijgen over de pyrofosfaatdosering, waardoor
- een constante kwaliteit bereikt kan worden
- minder fosfaatlozing plaats zal vinden
- minder pyrofosfaat verbruikt zal worden

In eerste onderdeel van het ontwikkelen van een on-line systeem is onderzoek gedaan naar de meest geschikte analyse-methode, het basisconcept en de leveranciers. Het meetprincipe zal gebaseerd zijn op het at-line systeem en moet resulteren in een robuuste, geheel geautomatiseerde on-line natchemische meting.

Ontwikkeling van een test-model bestaat uit:
1. Opstellen van een conceptueel model waarin;
- opbouw van het totale systeem
- inventarisatie van procesvereisten en randvoorwaarden
- inventarisatie van omgevingsfactoren
- oriëntatie van de mogelijkheden voor monsterneming/ voorbereiding
- keuze on-line leverancier en kosten evaluatie
- uitwerking van de conceptuele modellen

zal plaatsvinden.

In het tweede jaar van Fase 2 zal de ontwikkeling van de "at-line" methode tot een "on-line" methode voor de meting van pyrofosfaat plaatsvinden, resulterende in een detail-ontwerp, de bouw en het testen van een on-line apparaat.

2. Maken van een detail ontwerp, waarbij;
- een keuze voor basis onderdelen van het apparaat wordt gemaakt en
- het concept uitgewerkt wordt tot een concreet ontwerp

3. Bouwfase van het test-model
4. Testfase van het 'test-model'.

## 4.2 Opstellen van een conceptueel model

### *4.2.1 Opbouw van het totale meetsysteem*

Op basis van ontwikkeling van het at-line meetsysteem kunnen er in het ontwerp van het on-line systeem de volgende onderdelen onderscheiden worden:

1. Monstername en monstervoorbereidingssysteem
2. Destructie-unit
3. Pompsystemen/ vloeistoftransportsystemen
4. Meetsysteem
5. Nat-chemisch gedeelte
6. Detectie-unit
7. Signaalverwerking en dataweergave

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

Er is een 'universeel' systeem nodig dat gebruikt kan worden bij verschillende lijnen in verschillende aardappelverwerkende bedrijven (fritesproductie) met elk hun specifieke procescondities.

### *4.2.2 Inventarisatie van procesvereisten en randvoorwaarden in relatie tot on-line leveranciers*

In het eerste jaar van fase 2 werden leveranciers van on-line apparatuur en monstervoorbreidingsapparatuur voor fosfaat en totaal fosfaat benaderd teneinde vast te stellen welke aanpassingen nodig zijn om de "at-line" test, ontwikkeld in 2.1, om te zetten in een on-line methode. Aan de hand van de resultaten uit onderdeel 2.1. en 2.2 werden criteria opgesteld voor de selectie en verdere ontwikkeling van het "on-line" systeem. Deze kunnen onderverdeeld worden in algemene eisen aan de apparatuur (tabel 13) en pyrofosfaatspecifieke condities (tabel 14).

Tabel 9 Algemene eisen aan on-line meting in de aardappelverwerkende industrie

| | |
|---|---|
| Robuustheid apparaat | • explosieveilig (bestand tegen intern en externe druk en temperatuur)<br>• bestand tegen hogedrukwater |
| Hygiëne en veiligheid apparatuur | • reagentia ed. (na lek) niet in contact met proceswater<br>• reiniging en onderhoud minimaal (na 6 dagen)<br>• materiaalveiligheid<br>• alarm bij storingen<br>• Warenwettelijke eisen/ FDA-normen |
| Meetnauwkeurigheid | • absolute afwijking (Max. 10% rel. fout)<br>• reproduceerbaar<br>• ijkfrequentie en -methode |
| Koppeling naar software | • weergave/ verwerking resultaten /smartsensor |
| Reagentia | • bereiding/ verbruik en frequentie van vervanging |
| Afvalproductie | • minimaal |
| Gebruikersvriendelijkheid | • zowel digitaal als technisch als chemisch gezien |
| Mogelijkheden voor ingebruikname | • applicatiegarantie<br>• nazorg / service |

Bij de ontwikkeling van on-line pyrofosfaat meetapparatuur dient rekening te worden gehouden met enkele kritische omstandigheden en eisen die door de selectie van de meetmethode en de aard van de monsterstroom worden opgelegd (tabel 14).

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

Tabel 10: Pyrofosfaatspecifieke eisen en kritieke punten.

| | |
|---|---|
| Robuustheid monstervoorbereidingssysteem | • hoge dipwatertemperaturen (tot 85°C)<br>• pH<br>• samenstelling proceswater met uitgeloogd onoplosbaar aardappelmateriaal, verstopping filter/ apparatuur |
| Type meting | • natchemische meetmethode<br>• spectrofotometrische detectie in zichtbaar gebied (400-450 nm) |
| Robuustheid materiaal (o.a. sensor, kleppen, slangenpompen) | • hogere zuurconcentraties (~ 2.8 M $H_2SO_4$)<br>• hoge temperaturen (tot 95°C) pH sample 4-7<br>• meten in proceswater met uitgeloogd onoplosbaar materiaal: bestand tegen biologisch materiaal |
| Analysetijd | • duo-analyse (fosfaat en hydrolyseerbaar fosfaat) incl. reiniging in maximaal 15 minuten |
| Dode hoeken in het systeem | • geen ophoping en vervuilingen |
| Productieopstelling | • plaatsing apparatuur/ monstername (gerelateerd aan apparatuur afmetingen) |

### *4.2.3 Inventarisatie omgevingsfactoren*

De omgeving waarin het apparaat zal moeten te komen staan kan gekarakteriseerd worden als een fabrieksomgeving.
Als gemiddelde omgevingsconditie kan worden gehanteerd:
- omgevingstemperatuur 20°C-40°C (dichtbij dipunit)
- relatieve luchtvochtigheid: 60-95%

In deze fabrieksomgeving wordt meestal IP 55 of IP 56 als beschermingsgraad voor electrische apparatuur tegen uitwendige invloeden van stof en water gehanteerd.

Warenwet Hygiene van Levensmiddelen
par 6 Eisen inzake het materiaal en de apparatuur
- Artikel 25

Materiaal en apparatuur die met levensmiddelen in aanraking kunnen komen:
a. worden schoongehouden; en
b. zijn zodanig geïnstalleerd dat omringende ruimten goed kunnen worden schoongemaakt en zijn van een zodanige samenstelling en constructie en worden zodanig onderhouden en gerepareerd dat:
c. het risico van besmetting van levensmiddelen zoveel mogelijk beperkt wordt
d. zij grondig schoon gehouden worden en, voor zover noodzakelijk met het oog op de veiligheid of de deugdelijkheid van eet- en drinkwaren, gedesinfecteerd, rekening houdende met het beoogde gebruik ervan.

Deze bepalingen zijn nogal algemeen van aard. Concretere eisen m.b.t. materialen en constructie zijn opgenomen in de FDA-normen van het U.S. Department of Health and Human Services.

### *4.2.4 Oriëntatie van de mogelijkheden voor monstername en - voorbereiding*

Het blijkt dat met name de monstervoorbereiding een zeer kritische stap is voor storingsvrije werking en continuïteit van de on-line meting aan de pyrofosfaatdipunit. Tijdens deze monstervoorbehandeling moeten gesuspendeerde vaste deeltjes worden verwijderd, die slangen en pompen kunnen verstoppen of de spectrofotometrische meting in de meetcel kunnen verstoren.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

Hieronder zijn de belangrijkste commerciële systemen voor monsterfiltratie beschreven.

## 1. On-line homogenisatie

Dit is een monstervoorbereidingsmethode waarbij het gehele monster d.m.v. ultrasoon trillen gehomogeniseerd wordt. Dit is een dure optie, met name voor kleine monsterhoeveelheden. Tevens is onbekend of pyrofosfaat wel of niet gehydrolyseerd wordt tijdens deze voorbehandeling.

## 2. Disc filter

Het Disc filter is een cross-flow filtratie in miniatuurvorm, gemaakt van metaalgaas of teflon. De filterunit heeft een 'closed loop' systeem en kan worden gebruikt voor monsterstromen met gemiddelde deeltjesgrootte en –concentratie (100 tot 200 mg/L).
Door de turbulente flow ontstaat een zelfreinigend effect van de filter cel, waardoor een gemiddeld filtraat van 3 ml/min verkregen kan worden. Het filter kan gedurende minimaal een week onderhoudsvrij gebruikt worden. Schoonmaken van de unit is tevens afhankelijk van de monstersamenstelling en de frequentie van periodiek terugspoelen met schoonmaakreagentia. Het filtersysteem kan gemakkelijk gereinigd of vervangen worden zonder het proces te verstoren.
Het disc filter zal in het on-line systeem minder geschikt zijn aangezien de monstersamenstelling in het dipwater niet geschikt is: de deeltjesdichtheid overschrijdt de norm van 100 mg/L en daarnaast kunnen in dipwater ook deeltjes voorkomen die groter zijn dan 0.5 cm.

## 3. Cross-flow filtratie

### A. Cross flow ultrafiltratie

Cross-flow filtratie is een lage-druk systeem met de capaciteit om monsterstromen met een hoog aantal gesuspendeerde partikels en drijvende deeltjes te filteren. De filtratie wordt bewerkstelligd door een semi-permeabel membraan waardoor laag-moleculaire componenten zoals suikers en zouten kunnen passeren, terwijl gesuspendeerde en grotere deeltjes worden tegengehouden (afhankelijk van het type membraan, bv. tot 5 micrometer).
Het ongefiltreerde monster passeert het membraan met hoge snelheid, waardoor ophoping tegengegaan wordt. Voor een gegarandeerde continue filtratie zijn twee filterunits benodigd. Het niet-geselecteerde filter kan dan gespoeld worden via een speciaal spoelcircuit. De voor- en nadelen staan opgenoemd in tabel 11.

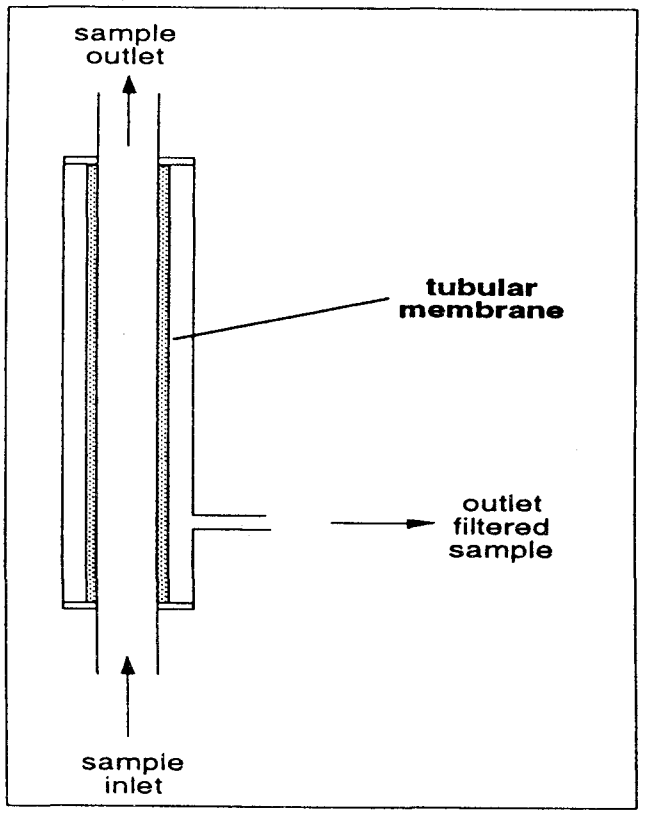
Tabel 11

| *Voordelen* | *Nadelen* |
|---|---|
| Hoge filtratiesnelheden | Hoge monsterstroom nodig |
| Continu gebruik (soms 2 nodig) | Kosten aanschaf |
| Weinig onderhoud | |
| Minimale operator controle | |
| Geen voorfiltratie vereist | |
| Lange levensduur membraan | |

Dit type filters worden reeds toegepast in monstervoorbereiding van o.a. biologisch actieve slib. Voor een optimale performance is 6-8 $m^3$ monster per uur (min. 3 $m^3$/hr= 50 L/minuut= 800 mL/sec) is nodig, afhankelijk van de interne diameter van het filter element. Dit resulteert in een filtraat van minimaal 200 mL/min.
Ultrafiltratiltratiemembranen zijn i.h.a. gemaakt van kunststof en zijn derhalve niet bestand tegen hogere temperaturen: bij dipwatertemperaturen van 60-80°C zal het materiaal uitzetten,

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

waardoor de poriën dicht zullen gaan zitten. Het dipwater kan evt. gekoeld worden via een tussenleiding. Echter dit zal een zeer ineffectief proces worden, aangezien dan veel te grote hoeveelheden proceswater (tot 8 m3 per uur) aan de lijn onttrokken worden. Dit water zal afgekoeld en weer opgewarmd moeten worden. Mits het kunststof ultrafilter membraan vervangen kan worden door bv. poreus gesinterd glas (prijs?) zal dit systeem in de praktijk niet haalbaar zijn.




Figuur 10: cross-flow filtratie systeem

**B. In-line cross flow filter**

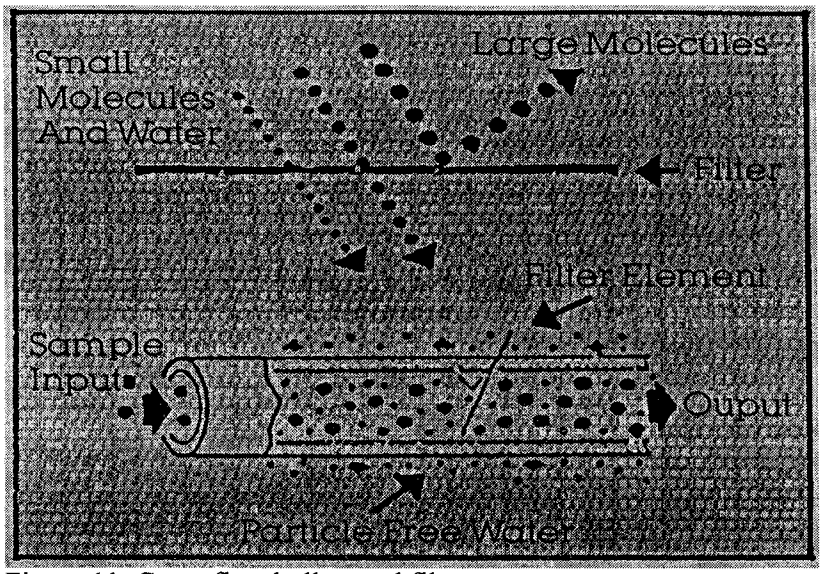
Gesuspendeerde deeltjes worden door een filterbuis gevoerd met hoge snelheid (onder druk) en is dus vergelijkbaar met cross-flow filtratie. Het overgebleven monster kan teruggepompt worden in het proces of naar een afvalbak gestuurd worden, terwijl het filtraat naar de analyser gepompt wordt. De maximale operating temperatuur is 130°F (72°C) in een pH range van 1-12. Een minimum flow van 5 mL/min is vereist om het filter onder voldoende druk te zetten. Het onderhoud is maandelijks.

**C. Cross flow holle vezel filter**

Cross flow ultrafilter door een multifilameuze holle vezel, waarlangs het monster omhooggepompt wordt, samen met een hoeveelheid lucht waardoor een twee-fase turbulente stroom ontstaat. Hierdoor wordt opeenhoping van materiaal op de vezels voorkomen. Door de holle vezels passeren deeltjes kleiner dan 0.4 µm.
Het voordeel van dit systeem is dat een kleiner monstevolume benodigd is (5L/min= 83 mL/sec), wat een filtraat flow rate levert van 15 mL/min.
Echter, deze hoeveelheden zijn nog steeds relatief hoog in vegelijking met de benodigde hoeveelheid voor analyse. Het nadeel is dat deze vezels niet bestand zijn tegen temperaturen hoger dan 35°C (analoog aan de problematiek beschreven in onderdeel 3A).

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

Het systeem wordt reeds gebruikt voor o.a. rioolwater. Het systeem bevat een drukpomp die aangeeft wanneer het filter schoongemaakt moet worden. Voor continu gebruik wordt een dubbele unit aanbevolen.

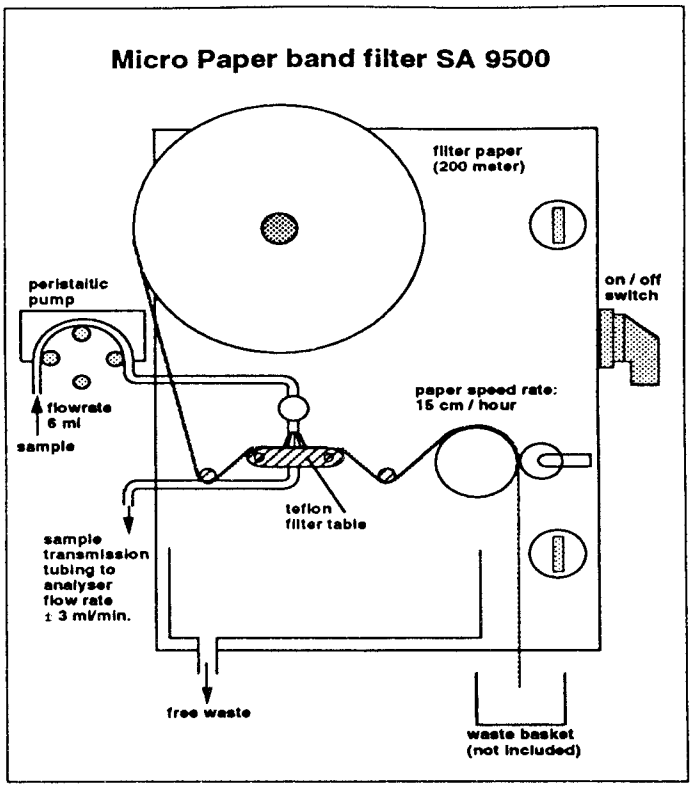



Figuur 11: Cross-flow holle vezel filter

**4. Papierband filter**

Papierbandfiltratie is geschikt voor monsters die kleine hoeveelheden van relatief grote deeltjes bevatten. Deeltjes > 30 µm worden gemakkelijk verwijderd. Dit systeem is werkzaam tot een concentratie van 10 g/L aan opgeloste deeltjes in het monster en tot 400 mg/L onoplosbaar materiaal. De sample flow rate moet ongeveer 6 tot 10 mL per min. zijn.
De papierrol draait continu met een bepaalde snelheid over een teflon tafel. Het ongefilterde monster wordt met de monsterpomp omhoog gepompt en over het filterpapier gesprayed. Het transport van het filterpapier wordt gecontroleerd door een drukmeter en verplaatst het papier met een snelheid van ongeveer 25 cm per uur. Het is makkelijk in gebruik, weinig onderhoud. Het is echter een open systeem (minder hygienisch). Het gefilterde monster dat hieruit gezogen wordt heeft een flow van 2.5 mL/min. Dit systeem is beschikbaar als enkel of dubbelstrooms filter.
Toepassingen worden gevonden in oppervlakte water, effluent stromen, drinkwater en kleine pilot plants.

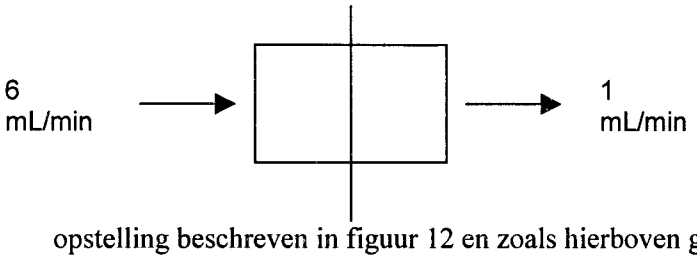
*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*



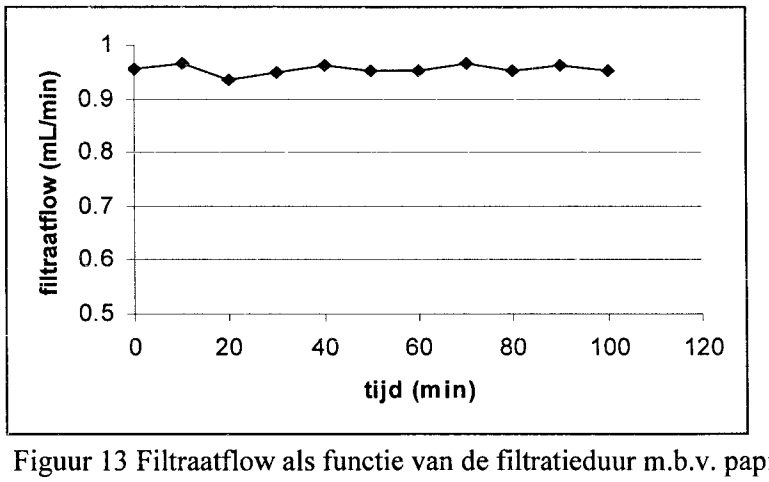

Figuur 12: Dwarsdoorsnede van een papierbandfilter

Een dipunitmonster afkomstig uit een bedrijf is gedurende een aantal uren gefiltreerd met de

30 µm




opstelling beschreven in figuur 12 en zoals hierboven geschetst.




Figuur 13 Filtraatflow als functie van de filtratieduur m.b.v. papierbandfiltratie

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

Uit figuur 13 blijkt dat de filtratiestap van 30 µm geen effect heeft op de filtraatflow gedurende twee uur continue filtratie.
Na filtratie was het monster nog steeds licht opalescent, mogelijk veroorzaakt door onopgeloste celwandresten en zetmeelmoleculen. Dit hoeft voor het on-line systeem niet direct een probleem te leveren als het monster direct sterk verdund wordt. Eventueel kan ook gebruik gemaakt worden van een dialysesysteem met een moleculaire cut-off van 1000 g/mol, waardoor zetmeelmoleculen hier nauwelijks doorheen kunnen komen.

## 5. Collins centrifugaal filter

Het Collins filter is een systeem waarbij het monster met een centrifugaalbeweging genomen wordt. In de praktijk werden goede resultaten verkregen bij metingen in slurries die tot 40% drogestof bevatten over filter van 0.2 µm. Er bestaan uitvoeringen in roestvrijstaal en polyethyleen.

## 6. Back flush filter

Het back flush sample systeem wordt gebruikt voor processtromen met een hoog drogestofgehalte, zoals water van processtromen. Een 125 µm filter (filter 1) verwijdert grove deeltjes aangevoerd met een stroom van 300 mL/min. Via een loop wordt een deel van het gefiltreerde monster gebruikt om filter 2 via een terugstroom te spoelen. Het sampling systeem is ontworpen voor een flow van ± 100 mL/min. naar de analyzer en is instelbaar afhankelijk van de poriegrootte van de filters (5-125 µm filters). Filter 1 en 2 worden afwisselend gebruikt voor filtratie.

## 7. Blow Back filter

Blow back filters zijn zelfreinigende filters die met tussenpauzen samengeperste lucht door het filter element blazen, om aangekoekt materiaal met een tegenstroom te verwijderen. Het is een gesloten systeem dat gemakkelijk te reinigen is. De monsterstroom passeert een filter element, waarvan poriegrootte kan variëren tussen 50 um en 1mm.
Toepassingen on-line zijn te vinden in afvalwater, rivierwater en proceswater met lage hoeveelheden aan gesuspendeerde vaste stof: flow rate van min. 1 $m^3$/hr (17000 mL/min) of grote hoeveelheden gesuspendeerde vaste stof: flow rate van min. 2.5 $m^3$/hr (42000 mL/min).

Tabel 12: overzicht van de mogelijkheden voor monstervoorbereiding

| Filter | Leverancier | Kosten (hfl.) | Debietseis (ml/min) | Filtraat flow (ml/min) | Tmax | Max. gesusp. deeltjes (g/L) | Universeel/ geschikt |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Disc filter | Skalar | 6000 | 1700 | 3 | 35 | | - |
| Crossflow A | Applikon | 10000 | 50000 | 200 | 45 | 3 | - |
| Crossflow B | Anasys | 10000 | 5 | | 72 | | - |
| Crossflow C | Skalar | 10000 | 5000 | 15 | 35 | | + |
| Papierband | Applikon, Anasys, Skalar | 6000 | 10 | 2.5 | 80 | 10 | + |
| Centrifugaal | Skalar, Hobre Instruments | 6000 | | 30 | 35 | 400 | + |
| Back flush | Skalar | 6000 | 300 | 100 | 35 | | + |
| Blow Back | Applikon, Hobre Instruments | 6000 | 42000 | 100 | 35 | | + |

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

### *4.2.5 Keuze on-line leverancier en kostenevaluatie*

Rekening houdend met de specifieke eisen genoemd in 4.2.2 en op basis van de volgende selectiecriteria (tabel 13) werden leveranciers van on-line apparatuur benaderd en werden inhoudelijk gesprekken gevoerd (tabel 14).

Tabel 13 Overzicht van de selectiecriteria

| | |
|---|---|
| 1a | vaste aanschafkosten (exclusief monsterfiltratie) |
| 1b | variabele kosten per jaar |
| 2 | flexibiliteit leverancier (toepasbaarheid van ontwikkelde 'at-line' meetmethode/ duale meting in één analyser) |
| 3 | applicatiegarantie |
| 4 | service |
| 5 | ervaring met extreme monsterstromen |
| 6 | gevoeligheid meting (slangenpompen ed, bewerkelijke stappen). |
| 7 | mogelijkheden/ inzicht monstervoorbereiding |
| 8 | ervaring met totaal P analyse |
| 9 | meetprincipe en onderdelen |
| 10 | robuustheid apparatuur |

Tabel 14 Leveranciers van on-line apparatuur en score op selectiecriteria

| **Leverancier** | **1a** | **b** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** | **Totaal** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Applikon | 77000 | 3000 | + | + | + | + | - | + | + | batch slangenpomp | + | + |
| Anasys | 94000 | 2000 | + | + | ++ | + | + | + | + | batch keramische pomp | + | ++ |
| Dr. Lange | 40000 | 2000 | - | - | - | - | - | - | + | batch slangenpomp | + | - |
| SKALAR | 47500 | 4000 | - | - | + | + | - | + | + | continu slangenpomp | - | +/- |
| Stip and Kats | 41000 | | - | - | - | - | - | - | + | batch slangenpomp | + | - |

Uit tabel 14 blijkt dat Applikon en Anasys de meest interessante partners zijn om te betrekken bij de ontwikkeling van dergelijk on-line apparaat. Deze leveranciers hebben een hoge mate van flexibiliteit m.b.t. tot het geheel automatiseren van een lab-bepaling tot een robuuste industriële meting.

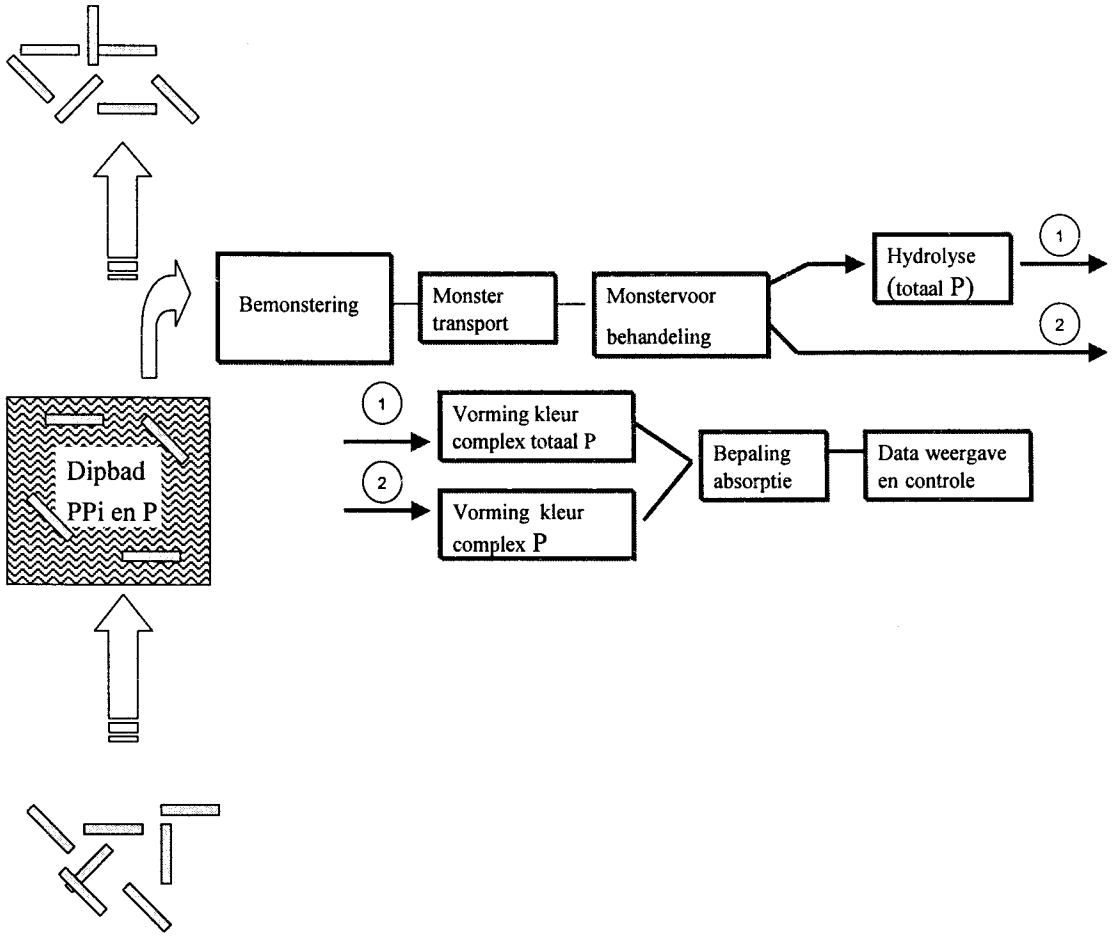
Applicatiegarantie

Bij de selectie van een leverancier voor on-line apparatuur bestaat een beperking tot de bedrijven die applicatiegarantie geven, zodat het risico voor de aardappelverwerkende industrie zo laag mogelijk wordt gehouden. Applikon geeft een applicatiegarantie van 60 dagen (bij niet functioneren van de wensen zoals door de klant omschreven zijn slechts de verzend en opstartkosten verschuldigd). Anasys geeft een levenslange applicatiegarantie. Beide bedrijven zijn op de hoogte van de Warenwettelijke regelgeving en de FDA normen en zijn in staat om daarop in te spelen.
Er bestaat de mogelijkheid voor lagere aankoopprijzen (korting tot 25%) als meerdere systemen gelijktijdig worden afgenomen. De ontwikkelingsduur varieert van 10 tot 14 weken.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

### *4.2.6 Uitwerking van de conceptuele modellen*

Het bewerkingsschema vanaf monstername, nat-chemische bewerking tot uiteindelijke data-weergave van de pyrofosfaat- en fosfaatconcentratie in het dipwater is weergegeven in onderstaand schema. De bemonstering en het transport zal plaatsvinden via slangenpompen. Na eventueel afkoelen wordt het monster voorbehandeld door bv. een filtratiestap. Vervolgens wordt het monster opgesplitst, waarvan een deel wordt gebruikt voor de bepaling van het totale fosfaatgehalte en het andere deel voor de bepaling van het fosfaatgehalte. Het is de bedoeling dat gedurende de hydrolyse van pyrofosfaat tot fosfaat de analyse van vrij fosfaat in het dipunitmonster plaatsvindt. Vervolgens vindt detectie plaats van het gehydrolyseerde monster, waarna de verzamelde datapunten worden omgezet tot direct bruikbare gegevens.




*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

# 5. Vervolgonderzoek

Verdere activiteiten in het tweede onderdeel van fase 2 richten zich op:

- de keuze van een on-line leverancier in overleg met VAVI
- het testen van enkele monstervoorbereidingssystemen (blowbackfilter, papierfilter) en definitie van (vereiste) procesomstandigheden (flow, temperatuur, samenstelling van monsterstroom)
- de bouw van het on-line prototype
- het testen van het ontwikkeld on-line prototype op het ATO
- het testen van het prototype en monstervoorbereidingssystemen in bedrijf X
- validatie van de nauwkeurigheid van het analysesysteem in bedrijven
- definitie van monstername
- verdere optimalisatie 'on-line'-test voor uiteindelijke toepassing

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

# Bijlage I

## Handleiding fosfaat- en pyrofosfaatbepaling volgens molybdovanadaatkleuring

***Principe:***
Anorganisch pyrofosfaat wordt door een hitte/zuur behandeling gesplitst in orthofosfaat.

$2\ Na^+ + 2\ H^+ + P_2O_7^{4-} + H_2O \rightarrow 2\ PO_4^{3-} + 4\ H^+ + 2\ Na^+$

Het algemene principe van deze indirecte bepaling van pyrofosfaat is gebaseerd op een hydrolyse van pyrofosfaat naar fosfaat. Het ontstane ortofosfaat vormt een complex met ammoniummolybdaat, waarvan de kleurintensiteit wordt versterkt door toevoeging van ammoniumvanadaat. Het complex dat gevormd wordt is helder geel van kleur. Voor de bepaling van pyrofosfaat en fosfaat in oplossing wordt gebruik gemaakt van een verschilmeting.
De absorptie wordt gemeten bij 410 nm.

***Benodigdheden:***

Reagentia:

| | |
|---|---|
| demiwater | |
| $KH_2PO_4$ | Kaliumdiwaterstoffosfaat Merck 4873 |
| $H_2SO_4$ p.a. | Zwavelzuur Merck 713 geconcentreerd |
| $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$* $4H_2O$ p.a. | Ammoniumheptamolybdaat Merck 1182 |
| $NH_4VO_3$ p.a. | Ammoniumvanadaat |
| $HNO_3$ p.a. | Salpeterzuur Merck geconcentreerd |

**Apparatuur**

ET100; spectrofotometer met golflengte 410 nm
ET108; destructie-apparaat, 100 °C
Cuvetten ( rond, 15 ml)
Voorgespoeld glaswerk of glazen potten voor reagentia
Gilson pipets; 1* 500 µL
1* 100 µL
1* 5 ml
Dispenser voor het reagens (tot 20 ml)

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

**Bereiden oplossingen (met demiwater)**

Fosfaatstandaardoplossing:
Los 4.39 gram $KH_2PO_4$ op in demiwater in een maatkolf van 100 ml (=stockoplossing; 10 g P/L)maak een reeks volgens het onderstaande schema:

| Concentratie eindoplossing | Stockoplossing (ml) | Demiwater (ml) |
|---|---|---|
| 0.5 g P /L | 0.250 | 4.750 |
| 1.0 g P /L | 0.500 | 4.500 |
| 2.0 g P /L | 1.000 | 4.000 |
| 3.0 g P /L | 1.500 | 3.500 |
| 3.5 g P /L | 1.750 | 3.250 |

Hydrolysereagens zwavelzuur ( 2.78 M) = oplossing A
154 ml geconcentreerd zwavelzuur voorzichtig toevoegen aan 846 ml demiwater.
Deze oplossing is minimaal zes maanden houdbaar bij kamertemperatuur.

Kleuringsreagens = oplossing B
14.4 ml geconcentreerd zwavelzuur en 4.2 ml geconcentreerd salpeterzuur voorzichtig toevoegen aan 981.4 ml demiwater. Goed roeren. Voeg daarna 10.4 gram Ammoniumheptamolybdaat en 0.52 gram Ammoniumvanadaat toe aan deze zure oplossing. Goed roeren totdat alle vaste stof opgelost is. Deze oplossing is minimaal zes maanden houdbaar bij kamertemperatuur.

**Pyrofosfaat in dipunitmonster bepalen**

- Opstarten destructieapparaat (ET108)
- Zet het apparaat aan
- Zet de temperatuur op 100 °C door op het knopje <temp> te drukken
- Zet de tijd <time> op oneindig (∞)
- Het apparaat is op temperatuur als het lampje gaat branden
- Opstarten spectrofotometer (ET100) zie bovenaanzicht ET100
- Plaats de analysekaart (2)
- Plaats filter (3)
- Check of het meetbereik op –0.700/1.300 staat door te drukken op (7)
- Calibreer het apparaat met demiwater; plaats 2 cuvetten op de juiste manier (blauwe streepje op de cuvet op inkeping in het apparaat) en druk op <Cal> (8)
- Bepaling fosfaat
- Pipetteer 0.5 ml oplossing A in cuvet 1
- Pipetteer 50 µl dipuitmonster
- Voeg 14 ml oplossing B toe aan cuvet 1
- Plaats deze cuvet in de spectrofotometer in de nulcuvet-schacht (zie bovenaanzicht ET100, 4)
- Bepaling totaal fosfaat
- Verwarm 0.5 ml oplossing A 5 minuten voor in cuvet 2. Cuvet goed sluiten met dop.
- Pipetteer 50 µl dipunitmonster in voorverwarmde cuvet 2 en verhit 5 minuten in ET108
- Na 5 minuten cuvet 2 uit ET108 halen en 14 ml oplossing B aan cuvet toevoegen.
- Plaats cuvet 2 in de spectrofotometer in de schacht (5), druk op <start> (6) en lees de absorptie af

Bereken het gehalte pyrofosfaat m.b.v. de formule:

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

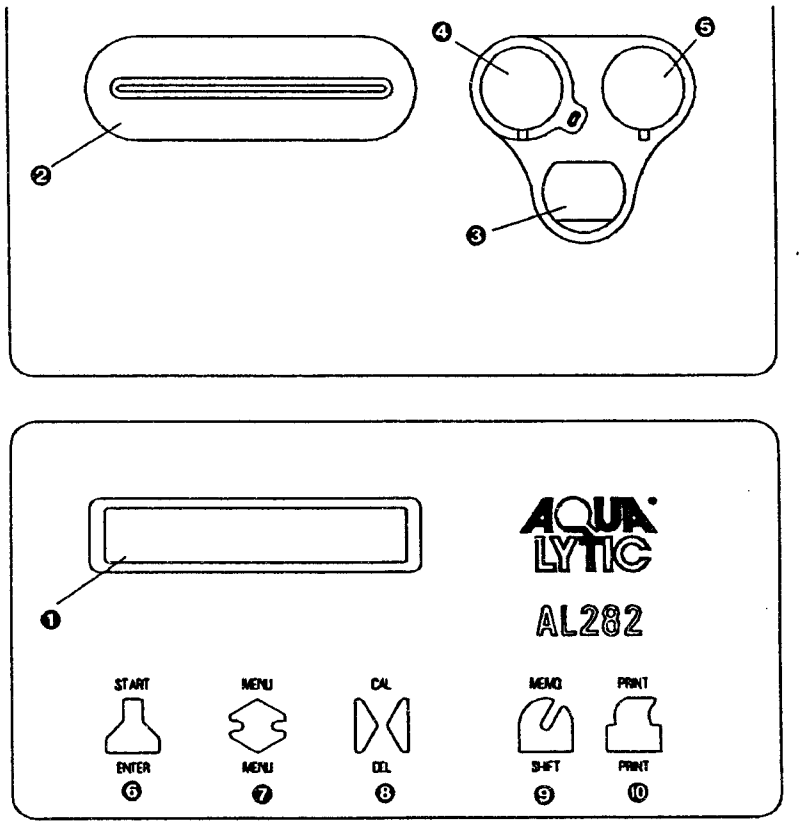
$$\text{gehalte Ppi} = \frac{E}{\varepsilon p} * \frac{MwPPi}{(MwP*2)}$$

$$\text{gehalte Ppi} = \frac{E}{3.54} * \frac{222.9}{(31*2)}$$

E = afgelezen absorptie
εp = extinctie-coëffiënt van fosfaat

Mw = molekuulgewicht

Bovenaanzicht ET100




1. Display
2. Chipkaart sleuf, door de analysekaart hier in te drukken wordt het apparaat ingeschakeld.
3. Plaats voor het filter
4. Nulcuvet, let op de plaatsing van de cuvet. Het streepje op de cuvet moet op het streepje van het apparaat vallen.
5. Meetcuvet
6. Start/Enter toets. Met deze toets wordt de meting gestart.
7. Menu toets. Met deze toets kan het meetbereik verandert worden.
8. Cal/Del toets. Calibratie van het apparaat gebeurt door het indrukken van deze toets. Let op: 2 cuvetten met demiwater in het apparaat plaatsen.
9. Memo/shift toets
10. Print toets

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

***Fosfaat in een dipunitmonster bepalen***

- Bereiding reagens blanco
- Pipetteer 0.5 ml oplossing A en 50 µl demiwater in een cuvet
- Voeg hierbij 14 ml oplossing B
- Plaats deze cuvet in de spectrofotometer op (4)
- Bereiding monster
- Pipetteer 0.5 ml oplossing A en 50 µl dipunitmonster in een cuvet
- Voeg hierbij 14 ml oplossing B
- Plaats deze cuvet in de spectrofotometer op (5)
- Druk op <start> en lees de absorptie af

Bereken het fosfaatgehalte met de volgende formule:

$$\text{gehalte P} = \frac{E}{Ep} * \frac{MwPO_4}{MwP}$$

$$\text{gehalte P} = \frac{E}{3.54} * \frac{95}{31}$$

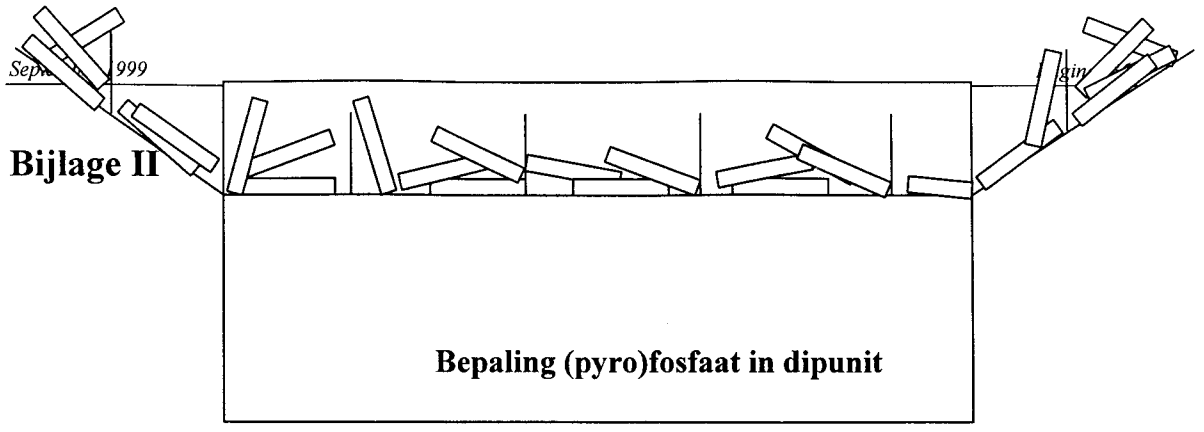
E = afgelezen absorptie
εp = extinctie-coëffiënt van fosfaat

Mw = molekuulgewicht

Opmerking:
Op korte termijn wordt er een analysekaart ontwikkeld waarin omrekeningsfactoren geprogrammeerd staan. Dit maakt het mogelijk direct het gehalte pyrofosfaat en fosfaat in het display af te lezen.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

**Bijlage II**

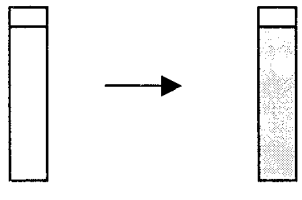



# Concept handout bepaling (pyro)fosfaat met spectrofotometer (ET100) en hydrolyse unit (ET108)

## 1) Verwarm de ET108 voor op 100 °C

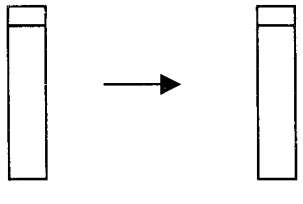
## 2) Bepaling totaal fosfaat (Mtp)

- Verwarm 0.5 ml oplossing A 5 minuten voor in cuvet 1 (cuvet goed afsluiten met dop!)
- Pipetteer 50 µl dipunitmonster in voorverwarmde cuvet 1 en verhit 5 minuten in ET108
- Na 5 minuten cuvet 1 uit ET108 halen en 14 ml oplossing B aan cuvet 1 toevoegen



## 3) Bepaling fosfaat (Mp)

- Pipetteer 0.5 ml oplossing A in cuvet 2
- Pipetteer 50 µl dipunitmonster
- Voeg 14 ml oplossing B toe aan cuvet 2

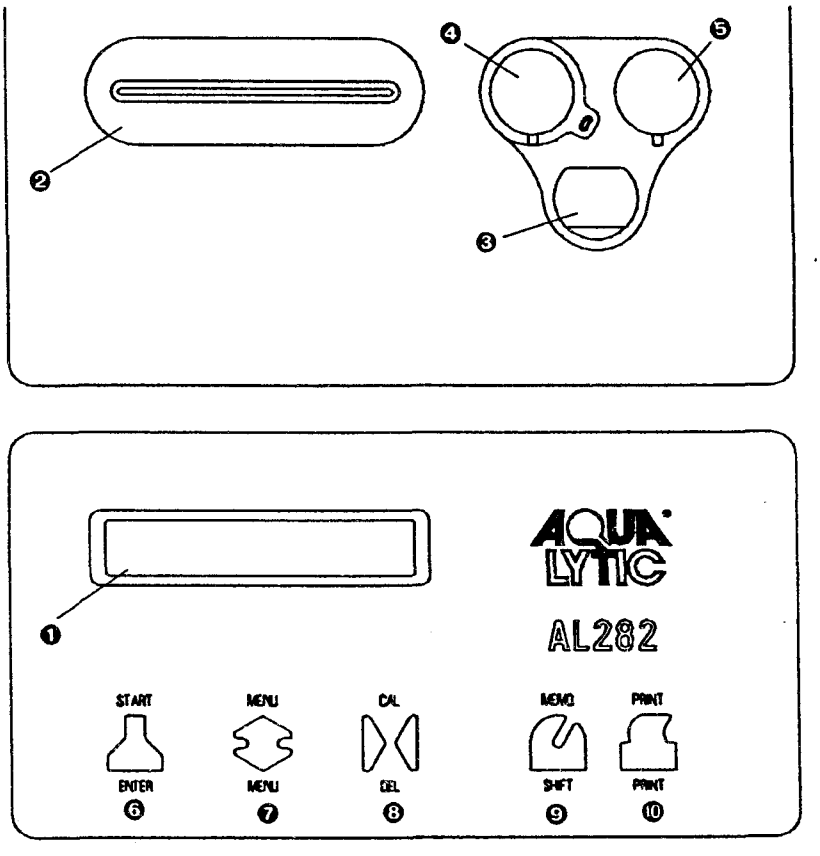


*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

# 4) Aflezen gehalten pyrofosfaat en fosfaat m.b.v. spectrofotometer (ET100)

- plaats analysekaart (2)
- plaats filter (3)
- plaats 2 cuvetten demiwater, let op correcte plaatsing
- <Cal>
- plaats cuvet 2 (Mp) in 4
- plaats cuvet 1 (Mtp) in 5
- <start>
- en lees absorptie/gehalte (pyro)fosfaat af

**Bovenaanzicht ET100**




*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*

## Bijlage III

## Gevarenlijst chemicaliën

- Ammoniumvanadaat:
  - Vergiftig bij opname door de mond
  - Irriterend voor de ogen, ademhalingswegen en de huid
  - Ingeval van ongeval of indien men zich onwel voelt, onmiddellijk een arts raadplegen (zo mogelijk hem het etiket tonen)
  - Draag handschoenen, beschermende kleding en veiligheidsbril
- Ammoniumheptamolybdaat
  - Schadelijk bij opname door de mond
  - Irriterend voor de ogen, ademhalingswegen en de huid
  - Bij aanraking met de ogen onmiddellijk met overvloedig water afspoelen en deskundig medisch advies inwinnen
  - Draag handschoenen, beschermende kleding en veiligheidsbril
- Zwavelzuur (geconcentreerd)
  - Veroorzaakt ernstige brandwonden
  - Bij aanraking met de ogen onmiddellijk met overvloedig water afspoelen en deskundig medisch advies inwinnen
  - Nooit water op deze stof gieten
  - Ingeval van ongeval of indien men zich onwel voelt, onmiddellijk een arts raadplegen (zo mogelijk hem het etiket tonen)
  - Draag geschikte handschoenen, beschermende kleding en veiligheidsbril
- Salpeterzuur (geconcentreerd)
  - Veroorzaakt ernstige brandwonden
  - Gas/rook/damp/spuitnevel niet inademen
  - Bij aanraking met de ogen onmiddellijk met overvloedig water afspoelen en deskundig medisch advies inwinnen
  - Ingeval van ongeval of indien men zich onwel voelt, onmiddellijk een arts raadplegen (zo mogelijk hem het etiket tonen)
  - Draag geschikte handschoenen, beschermende kleding en veiligheidsbril

Gebruik voor de afvoer van de oplossingen een afvalvat, waarop duidelijk is vermeld wat de inhoud is.

*Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.*