

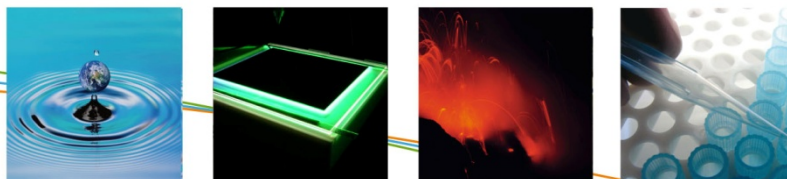
Eindrapport

Evaluatie ontsluitingsmethode voor de bepaling van fosfor in veevoeder

C. Vanhoof, F. Beutels, K. Duyssens en K. Tirez

Studie uitgevoerd in opdracht van de VLM:
2012/MANT/R/104

December 2012



VITO NV

Boeretang 200 - 2400 MOL - BELGIE
Tel. + 32 14 33 55 11 - Fax + 32 14 33 55 99
vito@vito.be - www.vito.be

BTW BE-0244.195.916 RPR (Turnhout)
Bank 375-1117354-90 ING
BE34 3751 1173 5490 - BBRUBEBB

Alle rechten, waaronder het auteursrecht, op de informatie vermeld in dit document berusten bij de Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek NV ("VITO"), Boeretang 200, BE-2400 Mol, RPR Turnhout BTW BE 0244.195.916. De informatie zoals verstrekt in dit document is vertrouwelijke informatie van VITO. Zonder de voorafgaande schriftelijke toestemming van VITO mag dit document niet worden gereproduceerd of verspreid worden noch geheel of gedeeltelijk gebruikt worden voor het instellen van claims, voor het voeren van gerechtelijke procedures, voor reclame of antireclame en ten behoeve van werving in meer algemene zin aangewend worden

SAMENVATTING

Voor de analyse van veevoeders in het kader van het mestdecreet dienen de methoden zoals beschreven in het compendium “Bemonsterings- en analysemethoden voor mest, bodem en veevoeder in het kader van het Mestdecreet (BAM)”¹ gevolgd te worden. Deze methoden zijn gebaseerd op de methoden beschreven in de Europese verordening Nr 152/2009 tot vaststelling van de bemonsterings- en analysemethoden voor de officiële controle van diervoeders.

De methode die momenteel is opgenomen in de Europese verordening Nr 152/009 voor de bepaling van fosfor in veevoeder is de spectrofotometrische bepalingsmethode volgens ISO 6491:1998 *Animal feeding stuffs - Determination of phosphorus content – Spectrofotometric method*². Het monster wordt ontsloten, hetzij langs droge weg door verassing bij 550°C en digestie met HCl en HNO₃ (organische veevoeders), hetzij langs natte weg door digestie in Kjeldahl-kolf met H₂SO₄ en HNO₃ (minerale stoffen en vloeibare diervoeders). Het fosforgehalte wordt vervolgens spectrofotometrisch gemeten.

Vermits voor de bepaling van fosfor in diverse matrices een zuurontsluiting gevolgd door een ICP-AES meting een gangbare meettechniek is binnen de erkende laboratoria, is het aangewezen om deze methodiek te evalueren voor opname in het BAM compendium voor de bepaling van fosfor in de matrix veevoeder.

Volgende analysemethoden zijn ontwikkeld binnen CEN/TC 327 en ISO TC 34/SC 10 *Animal feeding stuffs* en kunnen in het BAM compendium worden voorzien:

- ISO 6491:1998 *Animal feeding stuffs - Determination of phosphorus content – Spectrofotometric method* (huidige BAM methode)
- EN 15510:2008 *Animal feeding stuffs – Determination of calcium, sodium, phosphorus, magnesium, potassium, iron, zinc, copper, manganese, cobalt, molybdenum, arsenic, lead and cadmium by ICP-AES* (idem ISO 27085).

Deze methode beschrijft een ontsluiting, hetzij langs droge weg door verassing bij 450°C en digestie met HCl op een verwarmplaat (organische veevoeders, vrij van fosfaten), hetzij langs natte weg door digestie met HCl op een verwarmplaat (minerale stoffen en organische veevoeders met fosfaten). Het fosforgehalte wordt vervolgens gemeten met ICP-AES.

- EN 15621:2012 *Animal feeding stuffs – Determination of calcium, sodium, phosphorus, magnesium, potassium, sulphur, iron, zinc, copper, manganese and cobalt after pressure digestion by ICP-AES*.

Deze methode beschrijft een ontsluiting onder druk met een microgolfoven of met een hoge druk verasser. Als zuurmengsel wordt gebruik gemaakt van HNO₃/H₂O₂ of HNO₃. Het fosforgehalte wordt vervolgens gemeten met ICP-AES.

Een tijdrovende stap in dit analyseproces is de zuurdestructie. Omdat het gebruik van de verwarmbare destructieblok eenvoudig is en een grote mate van automatisatie toelaat, werden vergelijkende testen met de klassieke destructiemethode (reflux) uitgevoerd op veevoeders. Gebruikmakend van de verwarmbare destructieblok werd naast een ontsluiting met het HNO₃/H₂O₂ zuurmengsel (EN 15621) eveneens de universeel toepasbare HNO₃/HCl (aqua regia) destructie geëvalueerd. Vergelijkende analyseresultaten werden bekomen met de verschillende methoden zodat volgende procedures bijkomend kunnen opgenomen worden in het BAM compendium:

- ontsluiting met de verwarmbare destructieblok, gebruikmakend van volgende zuurmengsels:
 - o HNO_3/HCl (aqua regia)
 - o $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$

Wat betreft de praktische uitvoering van de proef, geniet de ontsluitingsmethode met aqua regia (HNO_3/HCl) met de verwarmbare destructieblok de voorkeur. Bij gebruik van H_2O_2 is het noodzakelijk om stapsgewijs dit zuur toe te voegen, wat de procedure meer arbeidsintensiever maakt.

INHOUD

Samenvatting	I
Inhoud	III
Lijst van tabellen	IV
Lijst van figuren	V
HOOFDSTUK 1. Inleiding	1
HOOFDSTUK 2. Evaluatie ontsluitingsmethode	5
2.1. Beschrijving monsters en monstervoorbehandeling	5
2.2. Beschrijving toegepaste destructiemethoden	7
2.3. Resultaten en verwerking	8
2.4. Besluit	12
HOOFDSTUK 3. Besluit	13
Literatuurlijst	14

LIJST VAN TABELLEN

Tabel 1 Overzicht geselecteerde veevoeders	5
Tabel 2 Duplo analyseresultaten voor fosfor bekomen met de 3 ontsluitingsmethoden	8

LIJST VAN FIGUREN

Figuur 1 A en B: Destructieblok met controller; B: destructiebuizen met condensor; C: filtratie eenheid; D: destructiebuizen	2
Figuur 2 Varkensvoeder (L: 20120605 – R: 20120606)	5
Figuur 3 Varkensvoeder (L: 20120607 – R: 20120609)	6
Figuur 4 Varkensvoeder (L: 20120612 – R: 20120613)	6
Figuur 5 L: Gemengd dierenvoeder(20120614) en R: mestvarkensvoeder(20120619)	6
Figuur 6 L: Varkensvoeder (20120620) en R: pluimveevoeder (20120622)	7
Figuur 7 Veevoerders na verfijnen < 1 mm	7
Figuur 8 Refluxopstelling met $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$	8
Figuur 9 Analyseresultaten (duplo) voor de bepaling van fosfor in veevoeder ifv de ontsluitingsmethode	9
Figuur 10 Bland Altman plot van het absoluut verschil tov het gemiddelde voor de bepaling van P met de reflux en de destructieblok (aqua regia)ontsluitingsmethode	11
Figuur 11 Bland Altman plot van het absoluut verschil tov het gemiddelde voor de bepaling van P met de reflux en de destructieblok ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$)ontsluitingsmethode	11
Figuur 12 Bland Altman plot van het absoluut verschil tov het gemiddelde voor de bepaling van P met de destructieblok (HNO_3/HCl vs $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$) ontsluitingsmethode	12

HOOFDSTUK 1. INLEIDING

Voor de analyse van veevoeders in het kader van het mestdecreet dienen de methoden zoals beschreven in het compendium “Bemonsterings- en analysemethoden voor mest, bodem en veevoeder in het kader van het Mestdecreet (BAM)”³ gevolgd te worden. Deze methoden zijn gebaseerd op de methoden beschreven in de Europese verordening Nr 152/2009 tot vaststelling van de bemonsterings- en analysemethoden voor de officiële controle van diervoeders.

Op Europees niveau worden binnen CEN/TC 327 *Animal feeding stuffs – Methods of sampling and analysis* de methoden voor de analyse van veevoeders uitgewerkt. Gezien eveneens binnen de internationale technische commissie ISO TC 34/SC 10 *Animal feeding stuffs* standaardisatie van methoden voor de analyse van veevoeders wordt uitgevoerd, is er een samenwerking tussen beide commissies.

De methode die momenteel is opgenomen in de Europese verordening Nr 152/009 voor de bepaling van fosfor in veevoeder is de spectrofotometrische bepalingsmethode volgens ISO 6491:1998 *Animal feeding stuffs - Determination of phosphorus content – Spectrofotometric method*⁴. Het monster wordt ontsloten, hetzij langs droge weg door verassing bij 550°C en digestie met HCl en HNO₃ (organische veevoeders), hetzij langs natte weg door digestie in Kjeldahl-kolf met H₂SO₄ en HNO₃ (minerale stoffen en vloeibare diervoeders). Het fosforgehalte wordt vervolgens spectrofotometrisch gemeten.

De meest recente analysemethoden die ontwikkeld zijn binnen CEN/TC 327 en ISO TC 34/SC 10 omvatten een zuurdestructie gevolgd door een meting van het fosfor gehalte met ICP-AES. Deze methoden zijn momenteel niet opgenomen in de Europese verordening Nr 152/2009, alhoewel deze beter aansluiten bij de gangbare meettechnieken in de laboratoria. Het betreft:

- EN 15510:2008 *Animal feeding stuffs – Determination of calcium, sodium, phosphorus, magnesium, potassium, iron, zinc, copper, manganese, cobalt, molybdenum, arsenic, lead and cadmium by ICP-AES* (idem ISO 27085).

Deze methode beschrijft een ontsluiting, hetzij langs droge weg door verassing bij 450°C en digestie met HCl op een verwarmplaat (organische veevoeders, vrij van fosfaten), hetzij langs natte weg door digestie met HCl op een verwarmplaat (minerale stoffen en organische veevoeders met fosfaten). Het fosforgehalte wordt vervolgens gemeten met ICP-AES.

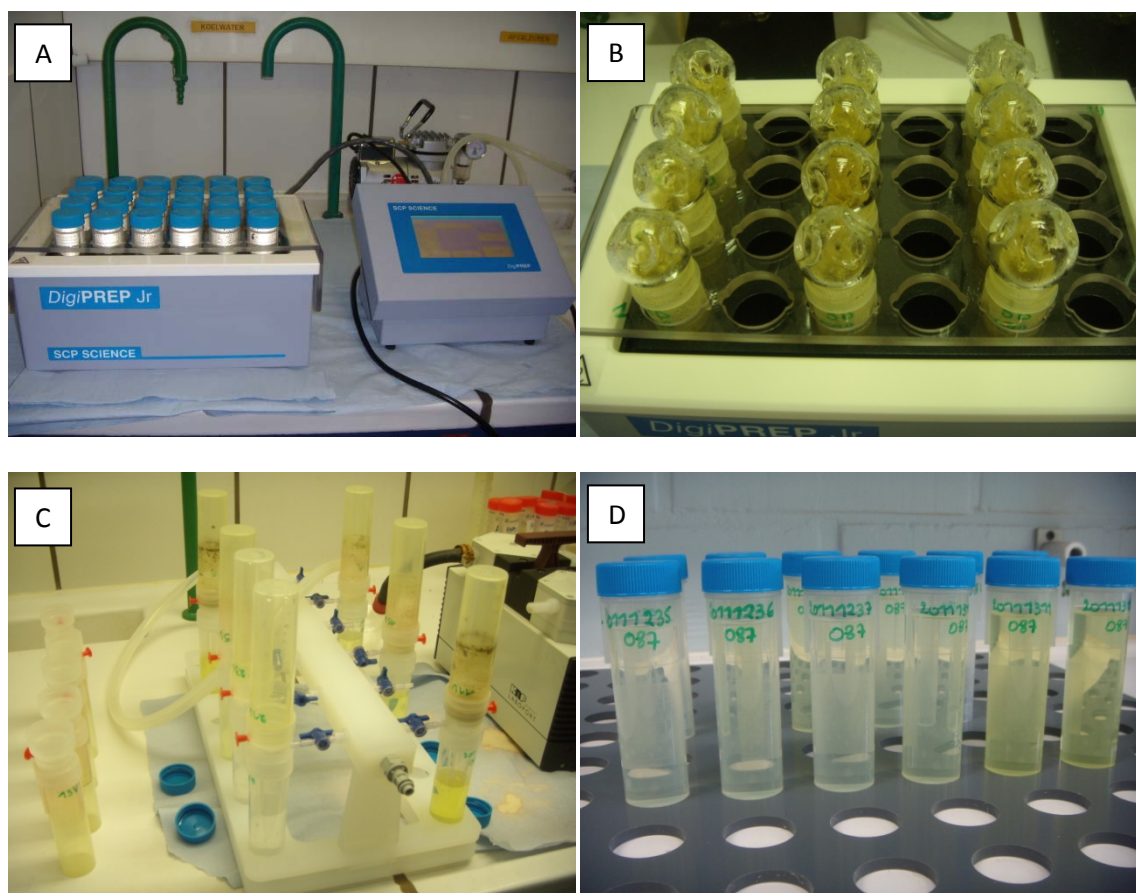
- EN 15621:2012 *Animal feeding stuffs – Determination of calcium, sodium, phosphorus, magnesium, potassium, sulphur, iron, zinc, copper, manganese and cobalt after pressure digestion by ICP-AES*.

Deze methode beschrijft een ontsluiting onder druk met een microgolfoven of met een hoge druk verasser. Als zuurmengsel wordt gebruik gemaakt van HNO₃/H₂O₂ of HNO₃. Het fosforgehalte wordt vervolgens gemeten met ICP-AES.

Deze Europese normmethoden zijn toepasbaar voor de bepaling van fosfor in veevoeder en kunnen worden opgenomen in het BAM compendium. Bijkomend is het wenselijk om nieuwe technieken te introduceren die toelaten om efficiënter en kostenbesparend te werken, waarbij

steeds wordt op toe gezien dat vergelijkbare resultaten worden bekomen met de huidige referentiemethoden.

Een alternatief voor het uitvoeren van zuurdestructies op een eenvoudig, snel en high throughput ontsluitingstoestel is de *verwarmbare destructieblok*. (Figuur 1 A). De grafieten destructieblok (24 tot 48 posities) is PTFE gecoat om te kunnen weerstaan aan agressieve zuren en kan opgewarmd worden tot 180°C. In de destructieblok kunnen wegwerpbare gegradueerde destructiebuizen (Figuur 1 D) geplaatst worden die uitgerust kunnen worden met een compacte condensor voor een efficiënt refluxproces (Figuur 1 B). De destructies van de veevoerders kunnen uitgevoerd worden met diverse zuurmengsels bij een destructietemperatuur van 105°C met stapsgewijze opwarming. De gedestruëerde monsters kunnen vervolgens gefiltreerd worden met een filtratie eenheid (Figuur 1 C). De uiteindelijke bepaling van het fosforgehalte wordt uitgevoerd met ICP-AES



Figuur 1 A en B: Destructieblok met controller; B: destructiebuizen met condensor; C: filtratie eenheid; D: destructiebuizen

Daarnaast werd vastgesteld dat verschillende zuurmengsels zijn beschreven in de Europese normmethoden (EN 15510, EN 15621), echter de *aqua regia* zuurontsluiting (HNO_3/HCl) die op Europees niveau universeel wordt toegepast voor de ontsluiting van diverse matrixtypes is niet opgenomen^{5,6}. Bijgevolg werd deze zuurontsluiting verder geëvalueerd.

Omdat het gebruik van de verwarmbare destructieblok eenvoudig is en een grote mate van automatisatie toelaat in vergelijking met de klassieke refluxopstelling, werden vergelijkende testen uitgevoerd op veevoerders. De efficiëntie van de destructie met de klassieke refluxopstelling met $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$ (BAM methode) werd getoetst aan deze met de destructieblok, waarbij enerzijds een

ontsluiting met een HNO_3 : HCl (aqua regia) en anderzijds met een $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ zuurmengsel (zie EN 15621:2012) werd uitgevoerd.

HOOFDSTUK 2. EVALUATIE ONTSLUITINGSMETHODE

2.1. BESCHRIJVING MONSTERS EN MONSTERVEROORBEHANDELING

Voor de evaluatie van de ontsluitingsmethode werden 18 veevoerders, representatief voor de sector, geselecteerd. In Tabel 1 wordt een overzicht gegeven van de verschillende monstertypes en hun droge stof gehalte. In Figuur 2 t.e.m. Figuur 6 zijn een aantal foto's weergegeven van de originele veevoerders. Alle monsters werden verfijnd met de automatische mortiermolen (Sample Mate™) en gezeefd over 1 mm. In Figuur 7 zijn als voorbeeld 2 verfijnde monsters afgebeeld.

Tabel 1 Overzicht geselecteerde veevoerders

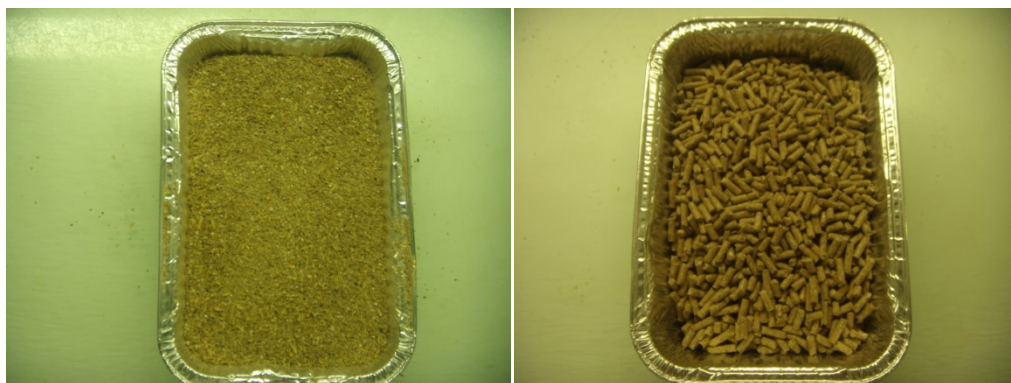
Code	Type	Droge stof gehalte %
20120605	varkensvoeder	90.8
20120606	varkensvoeder	89.8
20120607	varkensvoeder	90.4
20120608	varkensvoeder	80.5
20120609	varkensvoeder	78.5
20120610	varkensvoeder	84.8
20120611	varkensvoeder	86.7
20120612	varkensvoeder	82.6
20120613	varkensvoeder	90.6
20120614	gemengd diervoeder	90.9
20120615	melkveevoeder	89.6
20120616	gemengd diervoeder	90.7
20120617	varkensvoeder	90.7
20120618	varkensvoeder	89.0
20120619	mestvarkensvoeder	81.8
20120620	varkensvoeder	76.1
20120621	varkensvoeder	80.0
20120622	pluimveevoeder	86.5



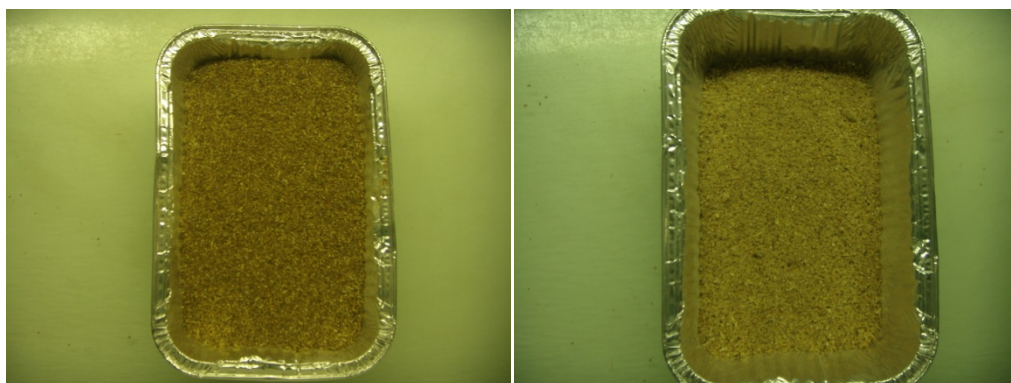
Figuur 2 Varkensvoeder (L: 20120605 – R: 20120606)



Figuur 3 Varkensvoeder (L: 20120607 – R: 20120609)



Figuur 4 Varkensvoeder (L: 20120612 – R: 20120613)



Figuur 5 L: Gemengd dierenvoeder(20120614) en R: mestvarkensvoeder(20120619)



Figuur 6 L: Varkensvoeder (20120620) en R: pluimveevoeder (20120622)



Figuur 7 Veevoerders na verfijnen < 1 mm

2.2. BESCHRIJVING TOEGEPASTE DESTRUCTIEMETHODEN

Voor de bepaling van fosfor in veevoeder werden 3 ontsluitingsmethoden geëvalueerd:

- Methode 1: BAM methode: ontsluiting met H_2SO_4 en HNO_3 in een refluxopstelling
- Methode 2: Onsluiting met HNO_3 en HCl in een destructieblok
- Methode 3: Ontsluiting met HNO_3 en H_2O_2 in een destructieblok

Het fosfor gehalte in de destructieoplossingen werd bepaald met ICP-AES.

Alle ontsluitingen werden in duplo uitgevoerd.

Procedure met refluxopstelling (methode 1)

Breng 1 g monster in een kolf. Voeg 20 ml zwavelzuur toe en zwenk om, ten einde het analysemateriaal goed te bevochtigen met het zuur en vastzitten aan de wand van de kolf te voorkomen. Verhit de kolf en laat gedurende 10 minuten koken. Laat even afkoelen, voeg 2 ml salpeterzuur toe en verwarm zacht. Laat weer even afkoelen, voeg opnieuw een weinig salpeterzuur toe en breng weer aan de kook. De bewerkingen herhalen totdat de oplossing kleurloos is. Laat vervolgens afkoelen, voeg een weinig water toe en filtreer het monster. Spoel de kolf verschillende keren na. Leng aan tot de maatstreep.

Opmerking: Bij deze monsters volstond het om 2 x 2 ml HNO_3 toe te voegen om een kleurloze oplossing te bekomen.



Figuur 8 Refluxopstelling met H_2SO_4/HNO_3

Procedure met destructieblok (methode 2 en 3)

breng 1 g gedroogd monster in de destructiebuis (50 ml) gebracht en voeg de volgende zuren werden toe:

- Methode 2: 4 ml HNO_3 en 12 ml HCl
- Methode 3: 6 ml HNO_3 + 1 ml H_2O_2

Opmerking: Bij het toevoegen van H_2O_2 begon het mengsel te bruisen. Om het bruisen te beperken werd H_2O_2 in stappen van 0,2ml toegevoegd.

Plaats de condensor op het recipiënt, laat het mengsel overnacht reageren en plaats het vervolgens in de destructieblok. Volgend destructieprogramma werd toegepast:

- opwarmen in 20 minuten naar $45^\circ C$, 5 minuten bij $45^\circ C$;
- opwarmen in 10 minuten naar $65^\circ C$, 10 minuten bij $65^\circ C$;
- opwarmen naar $105^\circ C$, 120 minuten bij $105^\circ C$.

Na destructie de oplossing aanlengen met ultra puur water tot 50 ml.

2.3. RESULTATEN EN VERWERKING

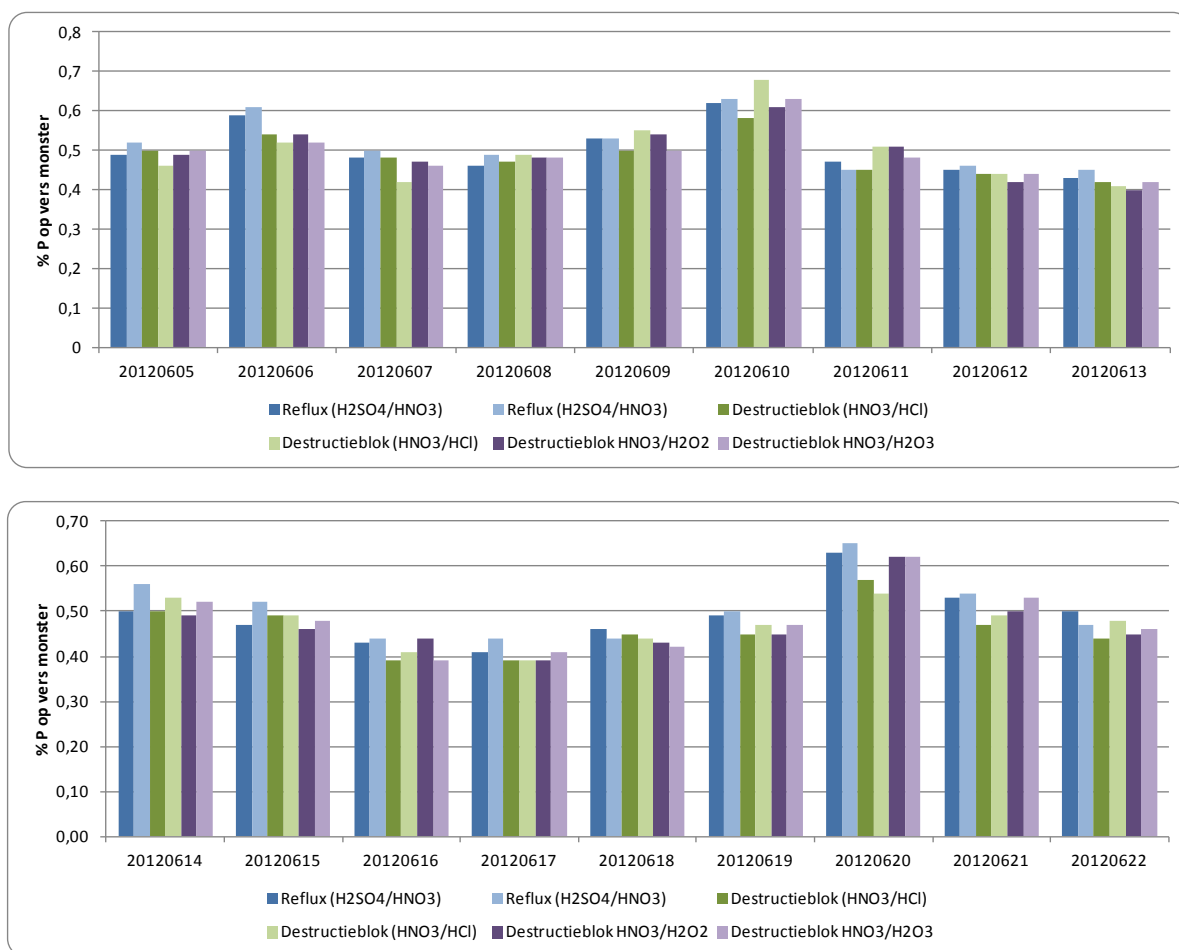
De bekomen resultaten (duplo) voor de bepaling van fosfor in veevoeder zijn weergegeven in Tabel 2 en Figuur 9.

Wat betreft de praktische uitvoering van de proef, geniet de ontsluitingsmethode met aqua regia (HNO_3/HCl) met de verwarmbare destructieblok de voorkeur. Bij gebruik van H_2O_2 is het noodzakelijk om stapsgewijs dit zuur toe te voegen, wat de procedure meer arbeidsintensiever maakt.

Tabel 2 Duplo analyseresultaten voor fosfor bekomen met de 3 ontsluitingsmethoden

Code	Reflux H_2SO_4/HNO_3		Destructieblok HNO_3/HCl		Destructieblok HNO_3/H_2O_2	
	% P op vers monster		% P op vers monster		% P op vers monster	
20120605	0,49	0,52	0,50	0,46	0,49	0,50
20120606	0,59	0,61	0,54	0,52	0,54	0,52
20120607	0,48	0,5	0,48	0,42	0,47	0,46
20120608	0,46	0,49	0,47	0,49	0,48	0,48
20120609	0,53	0,53	0,50	0,55	0,54	0,50

Code	Reflux $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$		Destructieblok HNO_3/HCl		Destructieblok $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$	
	% P op vers monster		% P op vers monster		% P op vers monster	
20120610	0,62	0,63	0,58	0,68	0,61	0,63
20120611	0,47	0,45	0,45	0,51	0,51	0,48
20120612	0,45	0,46	0,44	0,44	0,42	0,44
20120613	0,43	0,45	0,42	0,41	0,40	0,42
20120614	0,50	0,56	0,50	0,53	0,49	0,52
20120615	0,47	0,52	0,49	0,49	0,46	0,48
20120616	0,43	0,44	0,39	0,41	0,44	0,39
20120617	0,41	0,44	0,39	0,39	0,39	0,41
20120618	0,46	0,44	0,45	0,44	0,43	0,42
20120619	0,49	0,5	0,45	0,47	0,45	0,47
20120620	0,63	0,65	0,57	0,54	0,62	0,62
20120621	0,53	0,54	0,47	0,49	0,5	0,53
20120622	0,50	0,47	0,44	0,48	0,45	0,46
% CV _R (duplo)	3.8%		5.2%		3.6%	



Figuur 9 Analyseresultaten (duplo) voor de bepaling van fosfor in veevoeder ifv de ontsluitingsmethode

Teneinde een uitspraak te doen over de overeenstemming van de verschillende methoden werd gebruik gemaakt van Bland-Altman techniek⁷. Binnen deze techniek worden de verschillen die met twee analysemethoden bekomen worden, geëvalueerd. Hiervoor worden in de eerste plaats het gemiddeld verschil ($\bar{d}$) en de standaard afwijking (S_d) op het verschil tussen de meetresultaten van beide methoden A en B op verschillende monsters berekend. Wanneer verondersteld wordt dat deze verschillen normaal verdeeld zijn, kunnen 95% betrouwbaarheidslimieten van overeenkomst tussen beide methodes worden berekend als $\bar{d} - 1.96 S_d$ en $\bar{d} + 1.96 S_d$. Met behulp van de standaardfout van $\bar{d}$, $\sqrt{s_d/n}$, waarbij n de steekproefgrootte, kunnen de 95% betrouwbaarheidsintervallen worden gebruikt om te beoordelen of het gemiddelde verschil ($\bar{d}$) significant verschillend is van nul. In de figuren geeft de x-as het gemiddelde van de resultaten van de twee methoden, terwijl de Y-as het absolute verschil tussen beide methoden geeft.

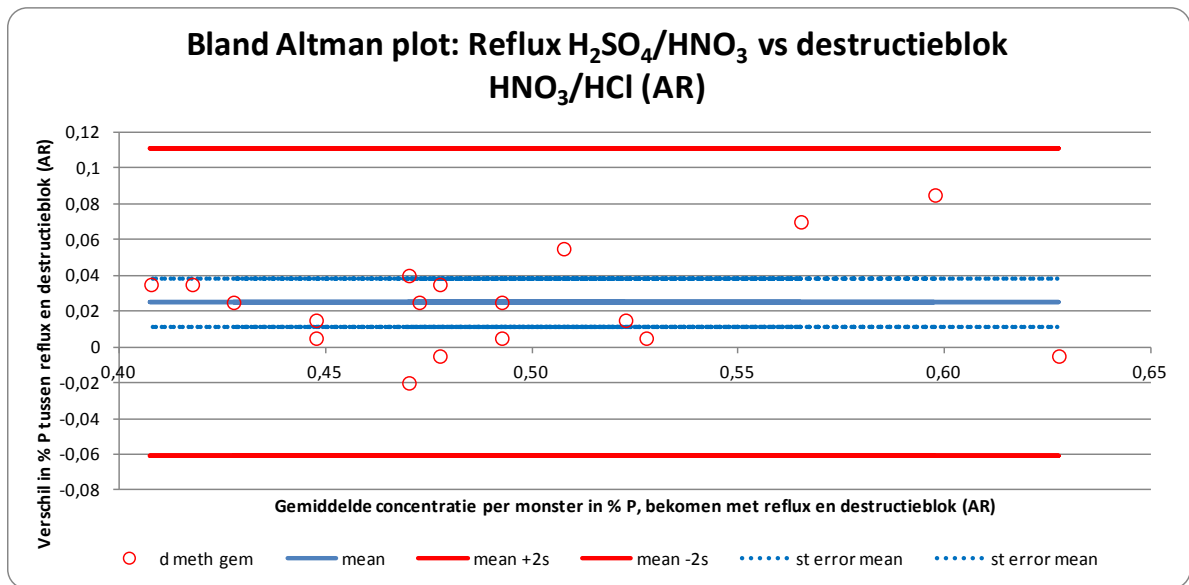
In Figuur 10 is de Bland Altman plot weergegeven voor de bepaling van P met de refluxmethode (H_2SO_4/HNO_3) en de destructieblok (HNO_3/HCl). De individuele verschillen tussen de datakoppels – in voorliggend geval afkomstig van reflux en destructieblok (HNO_3/HCl) – worden gesymboliseerd door de rode bolletjes. De volle blauwe lijn op +0.025 % P geeft het gemiddelde verschil tussen de resultaten van de beide ontsluitingsmethoden weer. De standaarddeviatie op het gemiddelde bedraagt 0,013 %P en wordt geïllustreerd door de twee blauwe stippellijnen ($= 1.96 \times S_d$). Tot slot geven de volle rode lijnen het 95% betrouwbaarheidsinterval van overeenkomst tussen beide methoden weer. Dit betekent dat 95% van de afwijkingen tussen deze beide rode lijnen gelegen zijn.

Alle fosforconcentraties in de veevoeders zijn gesitueerd tussen 0.4 en 0.65 % P op vers monster, een relevant concentratieniveau. De gerapporteerde resultaten zijn Rh (interne standaard) gecorrigeerd.

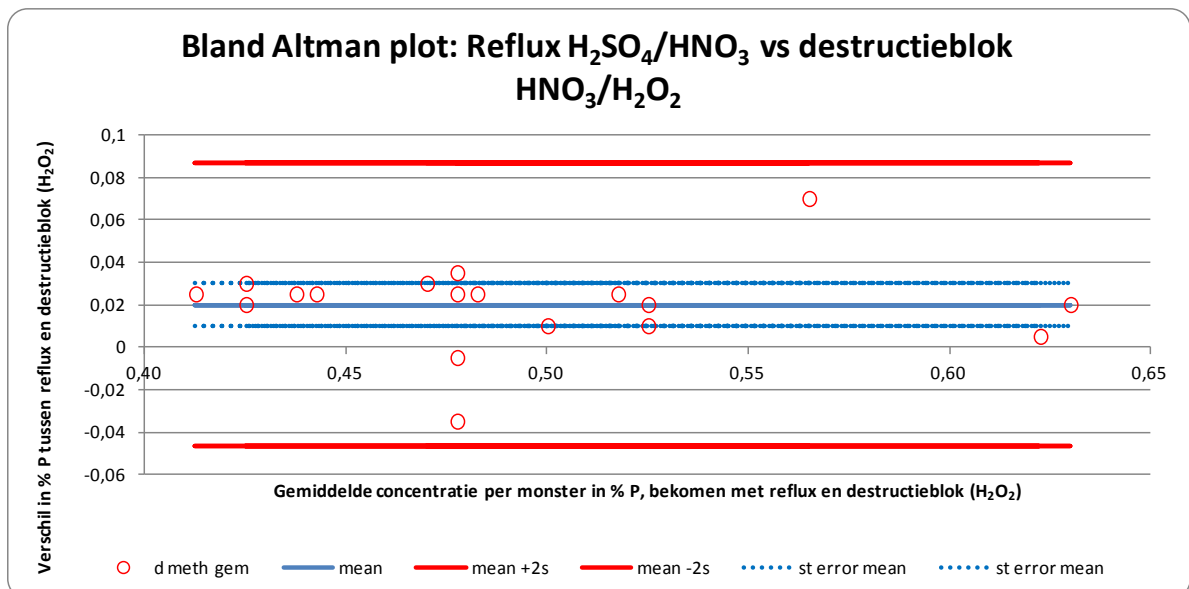
Bij vergelijking van de refluxmethode (H_2SO_4/HNO_3) en de destructieblok (HNO_3/HCl) (Figuur 10) is het gemiddeld verschil $\bar{d} = +0.025 \pm 0.013$ (95% betrouwbaarheidsinterval op de bias). Het verschil dat wordt vastgesteld is gesitueerd binnen de analytische meetfout. Bij evaluatie van de interne standaard Rh werd immers vastgesteld dat de Rh correctie in de met H_2SO_4/HNO_3 gedestruëerde monsters gemiddeld 95% bedraagt, wat duidt op een onderdrukking van het signaal. Bij de HNO_3/HCl gedestruëerde monsters daarentegen werd geen invloed van de matrix vastgesteld op de meting (gemiddelde Rh correctie van 101%). De zuurmatrix kan bijgevolg het uiteindelijke analyseresultaat beïnvloeden, niettegenstaande matrix matching wordt toegepast.

Bij vergelijking van de refluxmethode (H_2SO_4/HNO_3) en de destructieblok (HNO_3/H_2O_2), weergegeven in Figuur 11, is het gemiddeld verschil $\bar{d} = 0.02 \pm 0.01$ (95% betrouwbaarheidsinterval op de bias). Ook bij deze evaluatie mag aangenomen worden dat het vastgestelde verschil gesitueerd is binnen de analytische meetfout. Bij de HNO_3/H_2O_2 gedestruëerde monsters werd een gemiddelde Rh correctie van 102% bekomen, wat duidt op een beperkte invloed van de matrix op de meting. Gezien de zeer beperkte afwijking die tussen de beide methoden wordt waargenomen, kunnen deze als gelijkwaardig beschouwd worden.

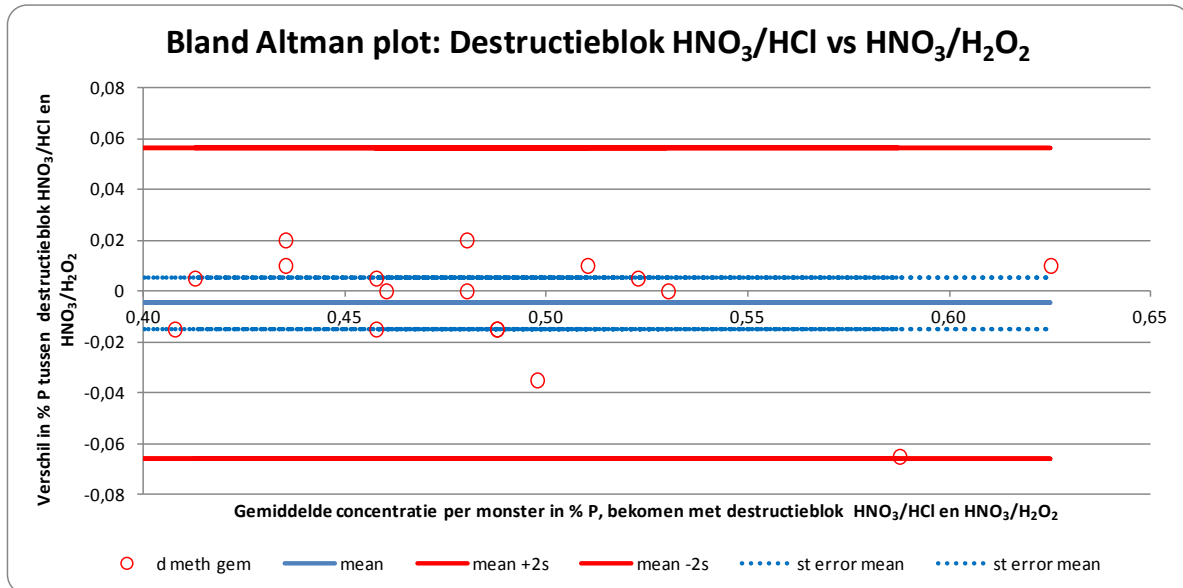
De evaluatie van de ontsluitingen met de destructieblok en de verschillende zuursamenstellingen (HNO_3/HCl versus HNO_3/H_2O_2) is weergegeven in Figuur 12. Een gemiddeld verschil $\bar{d} = -0.005 \pm 0.01$ (95% betrouwbaarheidsinterval op de bias) wordt hier bekomen, wat duidt op gelijkwaardige methoden. De 95% grenzen van overeenkomst tussen de 2 methoden geeft aan dat de ontsluiting met $HNO_3/HCl \pm 0.06\%$ P onder of boven de fosfor waarde van de HNO_3/H_2O_2 kan liggen.



Figuur 10 Bland Altman plot van het absoluut verschil tov het gemiddelde voor de bepaling van P met de reflux en de destructieblok (aqua regia)ontsluitingsmethode



Figuur 11 Bland Altman plot van het absoluut verschil tov het gemiddelde voor de bepaling van P met de reflux en de destructieblok ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$)ontsluitingsmethode



Figuur 12 Bland Altman plot van het absoluut verschil tov het gemiddelde voor de bepaling van P met de destructieblok (HNO_3/HCl vs $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$) ontsluitingsmethode

2.4. BESLUIT

De evaluatie van de verschillende ontsluitingsmethoden (refluxmethode met $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$, de destructieblok met HNO_3/HCl en de destructieblok met $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$) tonen aan dat vergelijkbare resultaten worden bekomen met de 3 methoden. De vastgestelde verschillen tussen de methoden kaderen binnen de analytische meetfout.

HOOFDSTUK 3. BESLUIT

Vermits voor de bepaling van fosfor in diverse matrices een zuurontsluiting gevolgd door een ICP-AES meting een gangbare meettechniek is binnen de erkende laboratoria, is het aangewezen om deze methodiek te evalueren voor opname in het BAM compendium voor de bepaling van fosfor in de matrix veevoeder.

Volgende analysemethoden zijn ontwikkeld binnen CEN/TC 327 en ISO TC 34/SC 10 *Animal feeding stuffs* en kunnen in het BAM compendium worden voorzien:

- ISO 6491:1998 Animal feeding stuffs - Determination of phosphorus content – Spectrofotometric method (reeds opgenomen in huidige BAM)
- EN 15510:2008 Animal feeding stuffs – Determination of calcium, sodium, phosphorus, magnesium, potassium, iron, zinc, copper, manganese, cobalt, molybdenum, arsenic, lead and cadmium by ICP-AES (idem ISO 27085).

Deze methode beschrijft een ontsluiting, hetzij langs droge weg door verassing bij 450°C en digestie met HCl op een verwarmplaat (organische veevoerders, vrij van fosfaten), hetzij langs natte weg door digestie met HCl op een verwarmplaat (minerale stoffen en organische veevoerders met fosfaten). Het fosforgehalte wordt vervolgens gemeten met ICP-AES.

- EN 15621:2012 Animal feeding stuffs – Determination of calcium, sodium, phosphorus, magnesium, potassium, sulphur, iron, zinc, copper, manganese and cobalt after pressure digestion by ICP-AES.

Deze methode beschrijft een ontsluiting onder druk met een microgolfoven of met een hoge druk verasser. Als zuurmengsel wordt gebruik gemaakt van $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ of HNO_3 . Het fosforgehalte wordt vervolgens gemeten met ICP-AES.

Een tijdrovende stap in dit analyseproces is de zuurdestructie. Omdat het gebruik van de verwarmbare destructieblok eenvoudig is en een grote mate van automatisatie toelaat, werden vergelijkende testen met de klassieke destructiemethode (reflux) uitgevoerd op veevoerders. Gebruikmakend van de verwarmbare destructieblok werd naast een ontsluiting met het $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ zuurmengsel (EN 15621) eveneens de universeel toepasbare HNO_3/HCl (aqua regia) destructie geëvalueerd. Vergelijkende analyseresultaten werden bekomen met de verschillende methoden zodat volgende procedures bijkomend kunnen opgenomen worden in het BAM compendium:

- ontsluiting met de verwarmbare destructieblok, gebruikmakend van volgende zuurmengsels:
 - o HNO_3/HCl (aqua regia)
 - o $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$

Wat betreft de praktische uitvoering van de proef, geniet de ontsluitingsmethode met aqua regia (HNO_3/HCl) met de verwarmbare destructieblok de voorkeur. Bij gebruik van H_2O_2 is het noodzakelijk om stapsgewijs dit zuur toe te voegen, wat de procedure meer arbeidsintensiever maakt.

LITERATUURLIJST

¹ Bemonsterings- en analysemethodes voor mest, bodem en veevoeder in het kader van het Mestdecreet (BAM), <http://www.emis.vito.be/referentielabo-vm>.

² ISO 6491:1998 Determination of phosphorus content – Spectrofotometric method.

³ Bemonsterings- en analysemethodes voor mest, bodem en veevoeder in het kader van het Mestdecreet (BAM), <http://www.emis.vito.be/referentielabo-vm>.

⁴ ISO 6491:1998 Animal feeding stuffs - Determination of phosphorus content – Spectrofotometric method.

⁵ EN 13650 Soil improvers and growing media - Extraction of aqua regia soluble elements.

⁶ EN 16174:2012 Sludge, treated biowaste and soil - Digestion of aqua regia soluble fractions of elements.

⁷ Bland JM, Altman DG., *Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement*, Lancet, pp. 307-310, 1986
<http://www-users.york.ac.uk/~mb55/meas/ba.htm>