

Departement Gezondheidszorg en Chemie Geel  
Bachelor in de chemie  
Optie milieuzorg



Biologische cyclus van chloor in de bosbouw  
Analyse van naalden, strooisel en humus

CAMPUS  
Geel



Carolien Verbeeck

**Academiejaar 2006-2007**

Indien van toepassing: melding ivm diploma

## VOORWOORD

De stage met het eindwerk is het finale stuk van de opleiding. Het is dan ook een grote uitdaging om dit goed te voltooien. Gelukkig heb ik heel wat hulp gekregen van mijn omgeving. Graag had ik dan ook al deze mensen bedankt.

Speciaal wil ik mijn dankbetuiging richten aan Yves Thiry, mijn externe stagebegeleider, voor alle hulp die ik gekregen heb. Bovendien wil ik May van Hees en Jean Wannijn bedanken voor al hun praktische hulp in het labo en daarbuiten. Ook zou ik alle collega's van de dienst radio-ecologie willen bedanken voor de aangename werksfeer en de ontspannende babbels.

Tevens richt ik mijn dank tot Kristien Schoone, mijn promotor, voor al het nalees- en verbeterwerk.

En natuurlijk mag ik mijn ouders niet vergeten te bedanken voor de kansen die ze mij gaven. Samen met hun wil ik ook mijn zus en vriend bedanken voor al hun geduld en steun als het eens wat minder ging.

## SAMENVATTING

Onderzoek naar mogelijkheden voor de ondergrondse opslag van radioactief afval is zeer hedendaags. Op lange termijn kan chloor-36 een belangrijke potentiële bijdrage leveren aan radioactieve straling die kan vrijkomen wanneer er een lekkage ontstaat bij een nucleaire opslagplaats. De waarden die men nodig heeft om een goede radiologische voorspelling te maken zijn echter schaars. Recentelijk wordt vooral de accumulatie van chloor-36 in de bodem en in vegetatie van natuurlijke ecosystemen zoals bossen onderzocht. Stabiel chloor (chloor-35) is een veel voorkomend element in het milieu en kan gebruikt worden voor de studie van de cyclus van chloor-36.

In deze studie werd gebruik gemaakt van verse naalden, naalden uit strooisel en humus afkomstig van een perceel met grove den (*Pinus Sylvestris*). Van deze materialen diende het gehalte aan organisch chloor en chloride bepaald te worden door middel van neutronen activatie analyse (NAA), een techniek waarbij de totale concentratie van elementen in een monster bepaald kan worden, en anionenchromatografie (IC).

Eerst en vooral werd het totale gehalte aan chloor in het monster gemeten, dit met NAA. Vervolgens werd op het monster een extractie uitgevoerd waardoor de organische en de anorganische fractie aan chloor gescheiden worden. De fractie aan anorganisch chloor werd gemeten met IC. De fractie aan organische chloor werd berekend als het verschil tussen het bepaalde gehalte aan totale chloor en anorganische chloor. Ter controle werd deze organische fractie ook gemeten met NAA. In verdere routinemetingen zou deze extra meting omwille van zijn kostprijs graag achterwege gelaten worden.

Het onderzoek toonde aan dat de methode voor naalden uit het strooisel en voor humus tot goede resultaten leidt. De controlemeting van het organische chloorgehalte met NAA kan weggelaten worden. Voor de verse naalden blijkt dat de methode nog niet op punt staat. Deze naalden bezitten waarschijnlijk teveel nevencomponenten die voor interferenties zorgen. Een verdere optimalisatie van de methode voor de verse naalden is noodzakelijk.

Wanneer de cyclus van chloor geschetst werd, werd het duidelijk dat het gehalte aan totaal en organische chloor daalt wanneer de verse naalden in strooisel omzetten. In de bovenste humuslaag is echter weer een stijging van beide gehalten zichtbaar. Anorganische chloor geeft daarentegen een continue daling doorheen de gehele cyclus. Deze afname van organisch chloor kan gedeeltelijk verklaard worden door uitloging van de biomassa. De toename aan organisch chloor kan gedeeltelijk verklaard worden door de activiteit van micro-organismen in de bodem.

## SUMMARY

Research to possibilities for underground storage of radioactive disposal is very contemporary. In the long term, chlorine-36, is an important potential contributor to radiation doses arising from leakage of a nuclear waste repository. The data needed for a comprehensive radiological assessment are however limited. In particular, the accumulation of chlorine-36 in soil and vegetation of a natural ecosystem like forest is now questioned. Stable chlorine (chlorine-35) shows a high occurrence in the environment and can be used as a surrogate for studies of chlorine-36 cycling.

Fresh needles, needles out of litter and humus from a pine stand were used in this study. The concentration of organic chlorine and chloride were determined in these materials, using neutron activation analysis (NAA), a technique that determines the total concentration of an element in a sample, and anion chromatography (IC). First, the total concentration of chlorine was measured, with NAA. Afterwards the sample was extracted to separate the fraction of organic and inorganic chlorine. The fraction of inorganic chlorine was measured with IC. The fraction of organic chlorine was calculated as the difference between the measured values of total chlorine and inorganic chlorine.

The organic fraction was also measured with NAA as a control. In further routine analysis, it was expected to avoid this extra test because of the costs of this measurement.

The research proves that the method gives good results for needles from the litter and for humus. The control test of the organic chlorine with NAA can thus be eliminated. The research also proves that the method is not yet optimal for the fresh needles. These needles probably contain too much supplementary components which will cause interference. A further optimization of the method for fresh needles is necessary.

When the cycle of chlorine was studied, it was shown that the total and the organic concentration of chlorine decline when the needles age and transform into litter. But there is an increase of both concentrations in the upper humus layer. Inorganic chlorine however present a continue decrease through the whole cycle.

The decreasing level can be explained partially by leaching of the biomass while the increasing level can be explained partially by the activity of micro-organisms in the soil.

## INHOUDSTAFEL

VOORWOORD .....	2
SAMENVATTING.....	3
SUMMARY .....	4
INHOUDSTAFEL .....	5
ALFABETISCHE LIJST VAN GEBRUIKTE AFKORTINGEN .....	7
INLEIDING .....	8
<b>1 Theoretische achtergrond</b>	
1.1 Problematiek .....	9
1.1.1 Soorten radioactief afval .....	9
1.1.2 Ondergrondse berging van radioactief afval.....	10
1.2 Chloor-36 .....	11
1.3 Het voorkomen en de cyclus van chloor-35 in het milieu .....	12
1.3.1 Stellingen.....	12
1.3.2 Bronnen van chloor-35.....	12
1.3.3 Chloor-35 in de bodem .....	13
1.3.4 Chloor-35 in plantenmateriaal .....	14
1.3.5 De cyclus van chloor-35 .....	15
1.3.5.1 Input.....	15
1.3.5.2 Transport.....	17
1.3.5.3 Output.....	17
1.3.6 Evaluatie van de stellingen .....	17
<b>2 Gebruikte monsters</b>	
2.1 Gebied van monstername.....	19
2.2 Beschrijving van de monsters .....	19
2.2.1 Humus.....	19
2.2.2 Strooisel (litter) .....	21
2.2.3 Naalden .....	21
<b>3 Analytische methoden</b>	
3.1 Klassieke methode .....	22
3.2 Alternatieve methode .....	22
3.2.1 Principe .....	22
3.2.2 Neutronen activatie analyse.....	23
3.2.3 Ionenchromatografie (IC).....	26
3.2.4 Werkwijze .....	28
3.2.4.1 Probleemstellingen bij de methode .....	29
3.2.4.2 Herwerkte werkwijze .....	30
3.2.4.3 Malen .....	30
3.2.4.4 Extractie .....	30
3.2.4.5 Filtratie.....	30

#### **4 Verwerking van de resultaten**

4.1 Naalden .....	31
4.1.1 Testresultaten van de methode .....	31
4.1.2 Resultaten.....	32
4.1.3 Vergelijking met de literatuur.....	33
4.1.4 Besluit .....	33
4.2 Strooisel .....	33
4.2.1 Testresultaten .....	33
4.2.2 Interpretatie van de resultaten.....	33
4.2.3 Vergelijking met de literatuur.....	34
4.2.4 Vergelijking van de afgestorven naalden met de verse naalden.....	35
4.2.5 Besluit .....	36
4.3 Humus .....	36
4.3.1 Testresultaten van de methode .....	36
4.3.2 Toepassing van de methode .....	37
4.3.3 Vergelijking met de literatuur.....	39
4.3.4 Besluit .....	40
4.4 De evolutie van chloor .....	41
<b>ALGEMEEN BESLUIT .....</b>	<b>43</b>
LITERATUURLIJST .....	44
BIJLAGEN .....	46

## ALFABETISCHE LIJST VAN GEBRUIKTE AFKORTINGEN

AOX	: Absorbed organic halogens
IC	: ionenchromatografie
m.o.	: micro-organismen
mQ	: milli Q water (ultrapuur water)
NAA	: neutronenactivatie analyse
SCK	: studiecentrum voor kernenergie
St.dev.	: standaardafwijking (standard deviation)
$T_{1/2}$	: halfwaardetijd
TOX	: Total Organic Halogens; De som van alle organische halogenen in een vast staal, meestal gemeten als het gehalte aan chloor
TX	: Total Halogens; De som van alle halogenen (zowel organisch als anorganisch) in een vast staal.

## INLEIDING

Op het SCK-CEN gebeurt veel onderzoek naar de effecten van kernenergie. De dienst radio-ecologie houdt zich bezig met onderzoek naar het effect van straling op mens en milieu. Naar aanleiding van de recente experimenten betreffende de ondergrondse opslag van radioactief materiaal wordt dit onderzoek opgesteld.

Het onderzochte element in deze studie is chloor. De actieve chloor (chloor-36) is namelijk één van de mogelijk aanwezige schadelijke componenten in radioactief afval. Omdat natuurlijk chloor (chloor-35) een veelvoorkomend element is in de natuur kan het onderzoek naar de cyclus van actief chloor uitgevoerd worden op omgevingsmaterialen. Er zijn zeer veel soorten omgevingsmaterialen, zodat deze niet allemaal gemeten kunnen worden. In dit werk beperken we ons tot verse naalden, afgestorven naalden in het strooisel en humus. Doordat de naalden de belangrijkste input zijn in het strooisel en de humus kan er een cyclus bestudeerd worden vertrekkende uit de verse naalden tot de humus.

In dit eindwerk is het de bedoeling een methode op punt te stellen om het totale chloor- en chloridegehalte van de onderzochte materialen (verse naalden, strooisel en humus) goed te kunnen meten, en dit door gebruik te maken van neutronen activatie analyse en ionenchromatografie. Met de bekomen resultaten kan vervolgens de cyclus van chloor in deze materialen geschetst worden.

Voor de extracties die nodig zijn om de diverse fracties in de monsters te kunnen onderscheiden, wordt gestart met een methode uit de literatuur. Deze methode wordt verder geoptimaliseerd in dit onderzoek.

Betreffende het onderwerp zijn er al enkele onderzoeken uitgevoerd, maar de meetresultaten zijn beperkt. Bovendien zijn de onderzoeksplaatsen heel verschillend, wat andere resultaten kan opleveren. Een vergelijking met deze literatuurwaarden is dus niet zo vanzelfsprekend.



# 1 Theoretische achtergrond

## 1.1 Problematiek

Vooraleer radioactief afval ondergronds opgeslagen kan worden moet men kunnen garanderen dat dit veilig kan gebeuren. Onvoorziene omstandigheden zoals lekkage moeten dus uitgesloten worden want hierbij zouden radioactieve bestanddelen rechtstreeks in het milieu terecht kunnen komen.

Van chloor wordt aangenomen dat het een relatief onschadelijk product is, maar radioactieve chloor (chloor-36) heeft een lange halfwaardetijd ( $T_{1/2} = 3 \cdot 10^5$  jaar) en zal dus schadelijk kunnen zijn voor mens en milieu. Het zal mogelijk gaan accumuleren in de voedselketen door opname via vegetatie en vee om zo bij de mens schade aan te richten.

Om het gedrag van de actieve chloor in het milieu te kunnen voorspellen zal de stabiele chloor-35, aanwezig in het milieu, bestudeerd worden. Zo kan er een idee gevormd worden over de opname en het transport van het geactiveerde element in bodem en plantenmateriaal.

### 1.1.1 Soorten radioactief afval

Het radioactief afval dat opgeslagen wordt, is afkomstig van verschillende bronnen en zal dus ook verschillende stralingen uitzenden. Het afval wordt ingedeeld naar hun schadelijkheid. We spreken van categorie A, B en C.

#### *Categorie A*

Deze categorie omvat het laag- of middelactief en kortlevend afval. Dit afval heeft geringe halveringstijden, maar kan eveneens een minimale hoeveelheid aan alfastralers bevatten met lange halveringstijden. Het afval van deze categorie zal minstens 300 jaar van mens en milieu afgeschermd moeten worden.

Voorbeelden: ontmantelingafval, beschermingsmaterialen, fabricage kernbrandstof...

#### *Categorie B*

Het afval van deze categorie omvat het laag- en middelactief afval dat gecontamineerd is met alfastralers met lange halveringstijd. Deze alfastralers zijn in groter aantal aanwezig dan bij categorie A. Bèta- en gammastralers kunnen eventueel ook aanwezig zijn.

Voorbeelden: idem categorie A

#### *Categorie C*

Deze categorie omvat al het hoogradioactief afval. Dit afval bevat hoge concentraties aan bèta- en gammastralers met een korte halveringstijd, maar ook grote hoeveelheden aan alfastralers met een lange halveringstijd. Dit afval geeft veel warmte af en zal hierdoor opgeslagen moeten worden onder ventilatie.

Voorbeelden: splijtingsproducten...

Het afval van categorie B en C moet voor enkele duizenden jaren opgeslagen worden om geen negatieve gevolgen te veroorzaken voor mens en milieu. Door de lange bergingstijden is er veel opslagcapaciteit nodig.

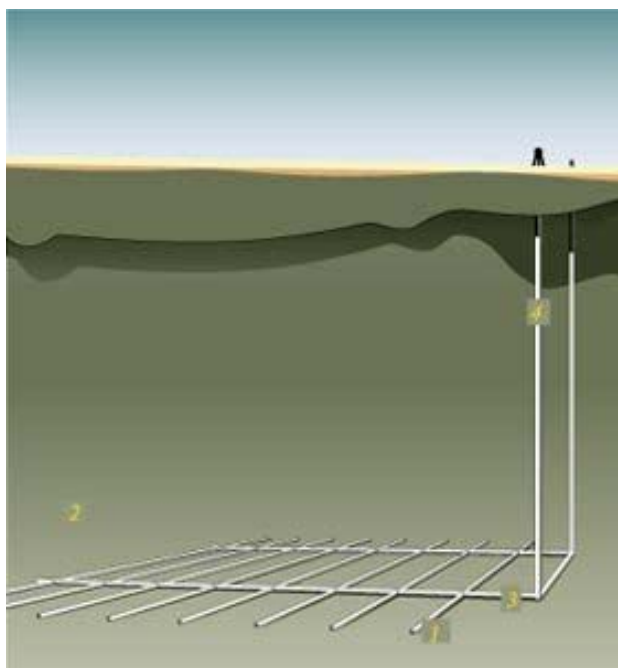
### 1.1.2 Ondergrondse berging van radioactief afval

Vroeger werd radioactief afval van categorie A gedumpt in de zee. Dit dumpen is nu verboden omdat dit zeer schadelijk zou kunnen worden voor mens en milieu. Hierdoor is de zoektocht naar andere opslag/dump- mogelijkheden groot geworden. Voor categorie A gebeurt deze opslag bovengronds.

Voor het radioactief afval van categorie B en C zou ondergrondse opslag een goede oplossing zijn om bescherming te bieden aan mens en milieu, indien deze berging kan gebeuren in een perfect stabiele geologische laag. Geologische lagen die hiervoor in aanmerking komen zijn zoutlagen (of -koepels), kleilagen en lagen van kristallijne gesteenten (bv. graniet).

In Mol test men momenteel of het mogelijk is om het afval op te slaan in de Boomse kleilaag (180m diepte en 100m dik). Deze laag is al miljoenen jaren stabiel. Door onderzoek heeft men reeds vastgesteld dat de kleilaag weinig waterdoorlatend is en dat ze een sterk retentievermogen heeft naar radionucliden.

De berging in deze laag zou gebeuren in een netwerk van ondergrondse betonnen pijpen. Hierbij zullen er voor elke categorie afzonderlijk extra veiligheidsmaatregelen (barrières) genomen moeten worden. Maar er kan geen garantie gegeven worden over de duurzaamheid van het materiaal van deze barrières, dat toch duizenden jaren intact moet blijven. De Boomse kleilaag zal hierdoor als natuurlijke barrière moeten optreden, indien de duurzaamheid van de materialen tekortschiet, om zo eventuele lekkage naar het milieu te vertragen.



Figuur 1.1 Ondergrondse opslag

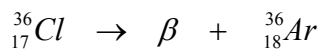
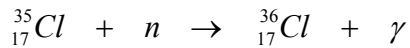
Maar bij ondergrondse berging komen nog heel wat vragen kijken, zoals "Wat met de stijging van de zeespiegel door de verandering van het klimaat?" En dat is nog maar 1 van de vele vragen waarop men nog geen antwoord heeft.

## 1.2 Chloor-36

Chloor-36 en chloor-38 zijn radioactieve isotopen van chloor. Chloor-36 is met zijn lange halfwaardetijd ( $3 \cdot 10^5$  jaren) veruit de belangrijkste van de twee en zal hierdoor ook het meeste schade kunnen berokkenen aan mens en milieu.

Chloor-36 is een bètastraler met een lage energiewaarde.

Bètastraling is negatief geladen en heeft dezelfde samenstelling als een elektron. Door zijn kleine massa en lading zal deze straling een groter doordringend vermogen hebben dan een alfadeeltje (dat zwaarder en sterker geladen is). Het kan zich voortbewegen door enkele cm lucht en kan worden tegengehouden door enkele mm aluminium.



Chloor-36 kan in het milieu voorkomen door natuurlijke en antropogene bronnen.

De natuurlijke bronnen zijn:

- kosmische straling van  ${}^{40}\text{Ar}$  in de atmosfeer
- interactie tussen kosmische radiatie en Cl in rotsen en bodem
- activatie van het stabiele chloor-35 in het aardoppervlak door natuurlijke productie van thermische neutronen

De antropogene bronnen zijn:

- nucleaire explosies  
bv. testen van kernwapens
- het verrichten van nucleaire industriële processen  
bv. afval van neutronen activatie en kernreactoren
- het gebruik van neutronen bronnen in (milieu) studies

Een indirecte bron van chloor-36 is de verbranding van biomassa die gecontamineerd is door antropogene bronnen. (White & Broadley, 2001)

### **Chloor-36 in radioactief afval**

Chloor-35 kan aanwezig zijn in materialen en brandstofpellets afkomstig van nucleaire energiereactoren. Meestal komt het element maar voor als een sporenelement door bijvoorbeeld een onzuiverheid. Maar door activatie bij gebruik in een reactor zal het chloor-35 beschoten worden met neutronen waardoor het actieve isotoop gevormd wordt.

Vroeger werd geen rekening gehouden met de aanwezigheid van chloor-36 bij de berging van radioactief afval, dit omdat de gebruikte analysetechnieken de sporenconcentraties aan chloor-35, in het materiaal en de brandstofpellets, niet konden detecteren. Daarbij werd dan nog eens aangenomen dat de eigenlijke waarden voor chloor veel lager lagen dan de detectielimiet doordat brandstofpellets gesinterd worden ( $1600^\circ\text{C}$ ) en chloor bij deze temperatuur vluchtig is.

Studies hebben ondertussen aangetoond dat chloor-35 wel degelijk aanwezig is in de materialen uit de kern van een reactor en dat er zo chloor-36 gevormd wordt bij bestraling. (Sheppard et al., 1996)

### 1.3 Het voorkomen en de cyclus van chloor-35 in het milieu

Chloor is in 1774 door Carl Scheele ontdekt, maar hij beseftte niet dat het een element was. Hij vermoedde dat het een verbinding van zuurstof was.

Chloor is een groep VII halogeen met atomisch nummer 17 en een gemiddeld atoomgewicht van 35,453. Er ontbreekt één elektron in de buitenste schil, hierdoor is chloor een reactief radicaal en reageert het met vrijwel elk ander element. De enige stabiele oxidatievorm van chloor is het monovalente anion,  $\text{Cl}^-$ .

Chloor bevindt zich op de 18<sup>de</sup> plaats van de 92 natuurlijke elementen in het globale voorkomen op de aarde, maar de aardkorst bestaat slechts uit 0,064% chloor-35. Chloor wordt op de aarde teruggevonden als twee natuurlijke en stabiele isotopen met massagetal 35 en 37 in een verhouding van ongeveer 3:1. Hun voorkomingsvormen bedragen respectievelijk 75,77% en 24,23%.

#### 1.3.1 Stellingen

Aan het begin van het onderzoek naar het voorkomen en het transport van chloor-35 hadden wetenschappers reeds enkele theorieën opgesteld.

1. Organische chloor in het milieu is van xenobiotische oorsprong.
2. Vooral chloride komt voor in het milieu.
3. Chloride neemt niet deel aan een biogeochemische cyclus.
4. Slechts enkele organismen kunnen chloride omzetten.
5. Alle gechloreerde organische verbindingen zijn persistent en toxisch.

Nieuwe onderzoeken hebben deze stellingen verworpen of bevestigd. (Öberg, 2002)

#### 1.3.2 Bronnen van chloor-35

##### ***Natuurlijke bronnen***

Chloor is van nature aanwezig in de zee, rivieren en planten. Als een organische verbinding is het een natuurlijke component van onze leefomgeving, net zoals koolstof, waterstof en zuurstof.

Natuurlijke bronnen van chloor zijn vulkaanuitbarstingen, bosbranden, verneveling van het zeewater en geologische verwerking. Ook in de bodem produceren en verbruiken een talrijk aantal micro- organismen, aardwormen, schimmels en hogere plantensoorten chloorverbindingen.

De organische chloorverbindingen in de natuur zijn veel talrijker dan die in de industrie. Een aantal van hen zijn noodzakelijk voor de gezondheid. De vele chemische verbindingen in de natuur zijn een belangrijke bron van kennis en inspiratie voor de chemische nijverheid in het algemeen en de farmaceutische industrie in het bijzonder. De industrie leert van de natuur en neemt soms haar methoden over.

##### ***Antropogene bronnen***

Chemisch ontwikkelde chloorverbindingen worden veel aangewend in het alledaagse leven. De wereldproductie van chloor bedraagt ongeveer veertig miljoen ton per jaar en heeft hiermee een vaste plaats in de top 10 van grondstoffen voor de chemische industrie. Chloor is hierdoor niet meer weg te denken uit het alledaagse leven. De waaier van toepassingen voor chloor is breed, voorbeelden van alledaagse toepassingen zijn het bleken van papier, ontsmettingsmiddelen, verf, pesticiden, kunstmeststoffen, kunststof, het zuiveren van water enz.

De industrie heeft dus een grote mogelijkheid om het milieu te vervuilen met chloorverbindingen, maar niet enkel de industrie is een potentiële vervuiler. Ook de huishoudens dragen hun steentje bij door bv. verbrandingen. Toch bedraagt het antropogene aandeel van chloor slechts 6% van het totale gehalte dat door de natuur voortgebracht wordt. De lozing van antropogene organische chloor wordt de dag van vandaag sterk beperkt. De gemeten concentraties liggen hierdoor dicht in de buurt van hun achtergrondconcentraties.

De chloor die vrijkomt door de natuurlijke en antropogene bronnen zal zich gaan verspreiden en afzetten in het milieu.

### 1.3.3 Chloor-35 in de bodem

Volgens Johansson (2000) komt het organisch chloor evenveel tot zelfs meer voor in de bodem dan chloride, vooral in bodems rijk aan organische materie.

De chloorverbindingen zijn afkomstig van neerslag, throughfall en interne productie, maar het gehalte aan chloor-35 wordt wel beïnvloed door menselijke activiteiten zoals irrigatie en bemesting.

#### **Chloride**

Chloride is aanwezig in praktisch elke bodem. Chloride deficiënte bodems zijn zeldzaam en worden enkel teruggevonden in gebieden die ver van de zee gelegen zijn. (Öberg, 1998)

Chloride komt in de bodem vooral voor als uitwisselbare ionen in het bodemwater geadsorbeerd aan bodempartikels of als vrije ionen die de stroming van het bodemwater volgen. Het idee dat chloride steeds de waterstroming volgt is dus verkeerd, het kan ook in de bodemlagen blijven hangen en eventueel reageren of accumuleren. (Svensson, 2006)

#### **Organisch chloor**

Het gehalte aan organische chloor in de bodem is recht evenredig met het gehalte aan organische materie in de bodem. Deze vaststelling laat vermoeden dat beide van eenzelfde bron afkomstig zijn en dat organische chloor een onderdeel is van de organische materie. (Öberg, Holm, Sandén, Svensson & Parikka, 2005)

Organische chloor is een natuurlijk element in de bodem, het kan op natuurlijke wijze ontstaan door vorming en omzetting van organismen. Dit wordt nog verder besproken bij de cyclus van chloor.

Het gehalte aan organische chloor varieert naarmate andere dieptes van de bodem geanalyseerd worden. In de bovenste humuslagen daalt het gehalte aan organische materie lichtjes met toenemende diepte, en dus zal ook het gehalte aan organische chloor dalen. Naarmate dieper gelegen bodemlagen onderzocht worden, zal de concentratie aan organische chloor weer stijgen. Er wordt gesuggereerd dat de vorming van organische chloor groter is dan de mineralisatie. Een teveel zou kunnen lekken naar ondergelegen bodemlagen. (Öberg 1998)

De aanwezigheid van organische chloor is afhankelijk van de mate van bemesting met N en de pH van de bodem. (Öberg, 2003)

### 1.3.4 Chloor-35 in plantenmateriaal

Chloor is een essentieel micronutriënt voor hogere planten, een minimum ervan is nodig voor de groei van de gewassen. Planten die geen chloor bevatten of kunnen verdragen komen dan ook slechts zelden voor. (White & Broadley, 2001)

#### **Chloride**

Het chloor is vooral aanwezig als chloride, gebonden aan een metaalion of aan een waterstofion. Chloride zal in planten zorgen voor de optimalisering van de osmotische druk en de ionische sterkte tussen de cellen, ook treedt chloride op als ion uitwisselaar en is het een belangrijke factor in de fotosynthese. (Öberg, 2003)

Organismen hebben een tijdelijke opslag van chloride, deze is afhankelijk van de soort, leeftijd, plantendeel, seizoen en van het totaal aantal organismen in een ecosysteem.

De benodigde hoeveelheid chloride kan normaal door regenval voorzien worden. Indien er toch een tekort aan chloor is, zal dit zich uiten in verminderde bladgroei en verwelking, gevolgd door chlorering, bronzing en necrose. Ook de groei van wortels en vruchten zullen belemmerd worden.

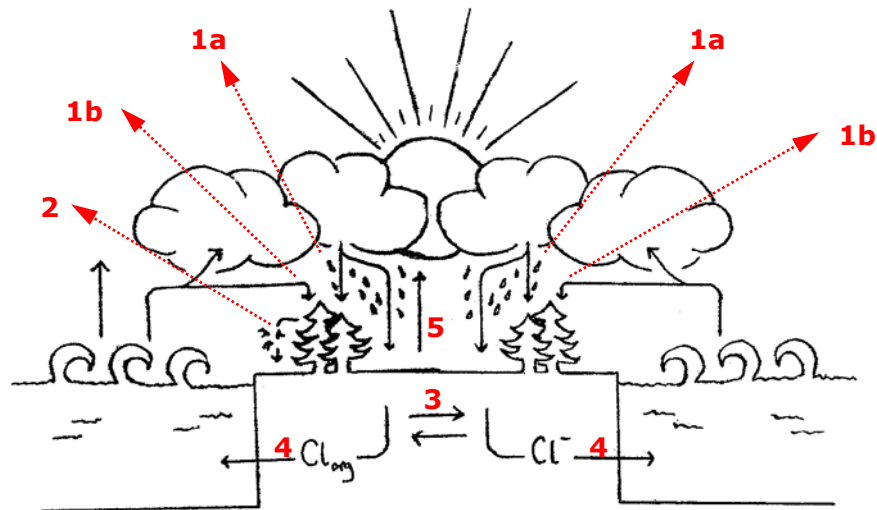
Bij een te grote concentratie aan chloor ontstaan er ongeveer gelijke toxiciteitreacties. Enkel de halofyten (zoutminnende planten) zullen zeer hoge zoutconcentraties tolereren en kunnen hierdoor zelfs gestimuleerd worden in hun groei. Deze planten aarden dan ook goed in zoutrijke gebieden zoals de duinen. (White & Broadley, 2001)

Buiten het feit dat planten wel degelijk chloride nodig hebben voor hun voortbestaan wordt dikwijls aangenomen dat vegetatie een transitiezone is voor chloride, op zijn weg van de atmosfeer terug naar zijn bron, de zee. Deze stelling wordt door hedendaagse onderzoeken ontkracht. (Svensson, 2006)

#### **Organisch Chloor**

Planten kunnen ook covalent gebonden chloor bevatten of zullen organische chloorverbindingen metaboliseren. Hierbij is de concentratie kleiner, maar ook afhankelijk van het soort en van de verschillende delen van de organismen. (Öberg, 2003) Hier zijn slechts weinig gegevens over bekend. Wel stelt Myneni (2002) dat de concentratie aan organische chloor stijgt naarmate de plantendelen ouder worden.

### 1.3.5 De cyclus van chloor-35



Figuur 1.2 Cyclus van chloor

- 1a natte afzet
- 1b droge afzet
- 2 throughfall (uitloging van de elementen uit plantendelen)
- 3 omzetting van organisch chloor naar chloride, en omgekeerd, in de bodem
- 4 wegvloeien van chloor
- 5 vervluchtiging naar de atmosfeer

#### 1.3.5.1 Input

##### – Externe bronnen

##### **Natte en droge afzet**

De natte afzetting is gemakkelijk te meten en bestaat uit regen, sneeuw ed.

Natte afzet is afhankelijk van:

- afstand tot de zee
- windrichting
- hoeveelheid neerslag
- gehalte aan chloor in de neerslag

De droge afzetting is moeilijk te meten en er wordt algemeen verondersteld dat deze afzetting in dezelfde grootteorde ligt als de natte afzetting.

Droge afzet is afhankelijk van:

- afstand tot de zee
- windrichting

(Johansson, 2000)

### **Afzet van chloride**

Zowel droge als natte afzet zal zorgen voor de input van chloride. Bij chloride wordt algemeen aangenomen dat de droge afzet van dezelfde grootteorde is als de natte afzet. Het aandeel van de droge afzet zal zelfs berekend worden door het verschil te nemen van de output en de natte afzet;

$$\text{droge afzet} = \text{output} - \text{natte afzet}$$

Maar nu wordt deze methode in twijfel getrokken aangezien er hierbij vanuit gegaan wordt dat chloride inert is in de bodem. Door onderzoek zijn er reeds bewijzen geleverd dat chloride actief is in de biogeochemische cyclus in het milieu. (Öberg et al., 2005)

### **Afzet van organische chloor**

De natte afzetting van organische chloor is gekend, maar er bestaat onzekerheid over de droge afzet van organische chloor. Deze kan niet op dezelfde manier berekend worden als voor chloride. Tot nu toe is de exacte droge afzet dus onbekend voor organische chloor. Als we veronderstellen dat beide soorten afzet ook hier van dezelfde grootteorde zijn, kan niet al de aanwezige organische chloor in de bodem verklaard worden door neerslag en afzet. Zelfs het aandeel van antropogene vervuiling is te klein om het restgehalte te vertegenwoordigen. De resterende fractie zal dus afkomstig zijn van een interne bron binnen het ecosysteem. (Öberg, 2003)

Dit wordt ook bevestigd door de afzet te meten in functie van de windrichting. Verwacht wordt dat de gehalten aan organische chloor hoger zijn in het gebied aan de kant van windrichting. Maar de verkregen resultaten maken duidelijk dat er niet meer afzet is in deze gebieden. Dus dat een groter gehalte aan organisch chloor nog een andere bron moet hebben. (Öberg, Johanssen & Grøn, 1997)

De afzetting vertegenwoordigt dus slechts een kleine fractie van de verschillende organische chloorverbindingen. De grootste fractie is nog steeds niet geïdentificeerd. Hieruit kan besloten worden dat er nog een deel van de organische chloor in de bodem gevormd wordt. (Öberg, 2003)

De chloorverbindingen zullen afgezet worden op vegetatie en de bodem. Maar de natte en droge depositie zijn verwaarloosbaar ten opzichte van de andere onderdelen van de cyclus.

#### **– Interne bronnen**

##### **Vorming**

Organische chloorverbindingen kunnen gevormd worden door planten, micro-organismen en schimmels in de bodem. De m.o. zullen chloride transformeren tot een gechlloreerde verbinding. Deze verbindingen vormen voor deze organismen een soort van afweer-, enzym- of metabolisatieproduct. Ze kunnen direct afgescheiden worden of intercellulair ontstaan en pas vrijkomen bij afsterven van het organisme. De organismen zijn in grote hoeveelheden aanwezig in de bodem, maar ze produceren maar minieme hoeveelheden gechlloreerde verbindingen. Deze vorm van input zal dus geen grote bijdrage leveren en kan bijgevolg niet de enige interne bron zijn. (Öberg, 1998)

De vorming kan eveneens voorkomen als een abiotisch proces in de bodem. Er zal dus een vorming plaatshebben zonder tussenkomst van organismen.



## **Omzetting**

Zowel de omzetting van chloride in organische chloor als omgekeerd komt tot stand. Dit vooral door de werking van bodemorganismen. De omzettingscapaciteit van deze organismen kan zeer groot zijn en zelfs zeer kleine concentraties kunnen omgezet worden. De omzetting is afhankelijk van het gehalte aan chloor, stikstof en de pH. (Öberg et al., 2005)

### **1.3.5.2 Transport**

Het aandeel aan organische chloor dat niet te verklaren is door natte of droge afzet kan misschien afkomstig zijn van erosie van plantendelen zoals bladeren en hout. Het materiaal erodeert in de loop van de tijd waardoor de elementen op de bodem of andere plantendelen terecht komen (throughfall). (Öberg, 2003)

Een ander deel kan te verklaren zijn door de biomassa van een ecosysteem, want ook deze delen bevatten organische chloor. Hierover zijn weinig gegevens gekend, al is er wel een relatieve zekerheid dat het aandeel van organische chloor in de bodem groter is dan het aandeel van organische chloor in de biomassa. (Öberg et al., 2005)

Organische materie, en dus ook organische chloor, zal neerwaarts getransporteerd worden in het bodemprofiel. Dit vooral door erosie en de activiteit van gravende bodem organismen zoals aardwormen. Hierdoor zal de concentratie aan organische chloor in de bodem verschillen met de lagen. De bovenste humuslagen zullen een hoger gehalte hebben aan organische chloor, dit door hun hoog gehalte aan organische materie. Naarmate de omzetting van de humus toeneemt, zal zowel het gehalte aan organische materie en chloor dalen. Maar indien de diepte zeer groot genomen wordt zal het gehalte aan organische chloor weer stijgen, dit dus door erosie, stroming van het bodemwater en activiteit van bodemorganismen. (Öberg, 1998)

### **1.3.5.3 Output**

De bodem zal mogelijk optreden als een vergaarbak voor organische chloor en chloride. Er zal dus een opslag plaatsvinden in de dieper gelegen bodemlagen, dit door neerwaarts transport van de verbindingen. (Svensson, 2006)

Niet enkel accumulatie is een bron van output, ook de vervluchtiging van organisch gechloreerde verbindingen aan het aardoppervlak is een vorm van output. Doordat de vegetatie en de bodemorganismen vluchtige gechloreerde verbindingen vormen zal een deel vervluchtigen in de atmosfeer. Gegevens over deze vorm van output zijn niet beschikbaar. (Öberg, 1998)

Svensson (2006) toont door onderzoek aan dat de input van chloride onderschat wordt indien de bodem deze chloride zal accumuleren.

## 1.3.6 Evaluatie van de stellingen

Door reeds uitgevoerd onderzoek kunnen de stellingen, zoals geformuleerd in 1.3.1 geëvalueerd worden.

- 1. Organische chloor in het milieu is van xenobiotische oorsprong.**  
*Maar er zijn meer dan duizend natuurlijk geproduceerde organische chloorverbindingen aangetoond.*
- 2. Vooral chloride komt voor in het milieu.**  
*Maar de concentratie van organische chloor in het milieu is van dezelfde grootteorde als deze van chloride.*

**3. Chloride neemt niet deel aan een biogeochemische cyclus.**

*Maar er is een hele cyclus van omzetting en vorming aangetoond.*

**4. Slechts enkele organismen kunnen chloride omzetten.**

*Maar het vermogen van organismen om chloride om te zetten naar organische chloor is eerder gewoon dan uitzonderlijk.*

**5. Alle gechloreerde organische verbindingen zijn persistent en toxisch.**

*Maar de meerderheid van de natuurlijk geproduceerde organische chloorverbindingen zijn niet toxisch noch persistent.*

(Öberg, 2002)

Een deel van de cyclus van chloor in het milieu is min of meer gekend door reeds gedaan onderzoek, maar er zijn nog steeds veel onbeantwoorde vragen bij de biogeochemische cyclus van chloor in het milieu.

- Hoe wordt de gehele cyclus van chloor in het milieu beïnvloed door natuurlijke parameters?
- Wat is het exacte aandeel van output door vervluchtiging?
- In welke mate zal chloor accumuleren in de bodem?
- Welke rol speelt de vegetatie van de bosbouw?

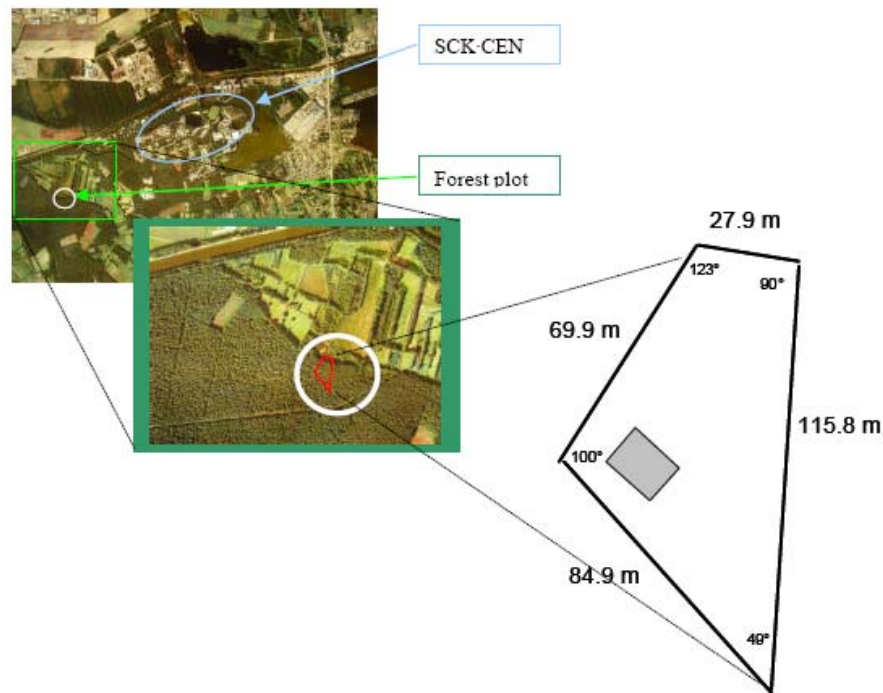
De gehele cyclus van chloor-35 moet goed gekend zijn vooraleer een terugkoppeling naar chloor-36 kan plaatsvinden. Daarbij moet men rekening houden dat de input van chloor-36 bij ondergrondse opslag (in geval van lekkage) zou plaatshebben in dieper gelegen grondlagen en niet langs de atmosfeer zoals bij natuurlijk chloor-35.

Er zijn dus nog veel onderzoeken en bijhorende meetresultaten nodig om tot een goede theorie te komen in verband met de biogeochemische cyclus van chloor in het milieu.

## 2 Gebruikte monsters

### 2.1 Gebied van monsternamen

De monsters werden genomen op een privé eigendom van het SCK. De eigendom is gelegen in het landelijk en bosrijk gebied van de kempen, regio Mol. De grootte van het perceel bedraagt 45 are en is begroeid met een bos van 55 jaar. Deze bebossing wordt beheerst door een artificiële naaldboom monocultuur (*Pinus Sylvestris*).



Figuur 2.1 Schets en ligging van het bemonsteringsgebied (Vincke, 2006)

De bodem bevat een relatief hoog gehalte aan humus en natte zones. Het is arme zandgrond, met slechts een zeer laag percentage aan klei en leem. Door de levensduur van het bos, de hoge omzetting van de biomassa en de hoge verdampingscapaciteiten heeft de vegetatie in het bos een grote invloed op de cyclus van het water en andere aanwezige elementen. (Vincke, 2006)

### 2.2 Beschrijving van de monsters

#### 2.2.1 Humus

Humus is een colloïdaal amorf materiaal, er is geen duidelijke structuur zichtbaar op macroscopisch of microscopisch vlak. De humus is opgebouwd uit complexe organische verbindingen die voortkomen uit afbraak- en syntheseprocessen van organisch materiaal in de bodem. (Pauwels, 2001)

Humus is opgebouwd uit complexe componenten, humineverbindingen en niet-humineverbindingen;

De humineverbindingen bevatten de humine- en de fulvozuren en vertegenwoordigen 60-80% van de totale aanwezige humus. Door hun complexe structuur zijn ze niet oplosbaar in waterige oplossingen en moeilijk afbreekbaar. Hun relatieve stabiliteit zorgt ervoor dat ze lang aanwezig kunnen blijven in de bodem. (Brady & Weil, 1996)

De niet-humineverbindingen zijn afkomstig van de afbraak van organisch materiaal door micro-organismen. Ze vertegenwoordigen 20-30% van de totale hoeveelheid van de aanwezige humus. Hun structuur is minder complex en zal dus meer onderhevig zijn aan afbraak dan de humineverbindingen. Deze vorm van humus is een continue voedingsbron voor organismen. (Brady & Weil, 1996)

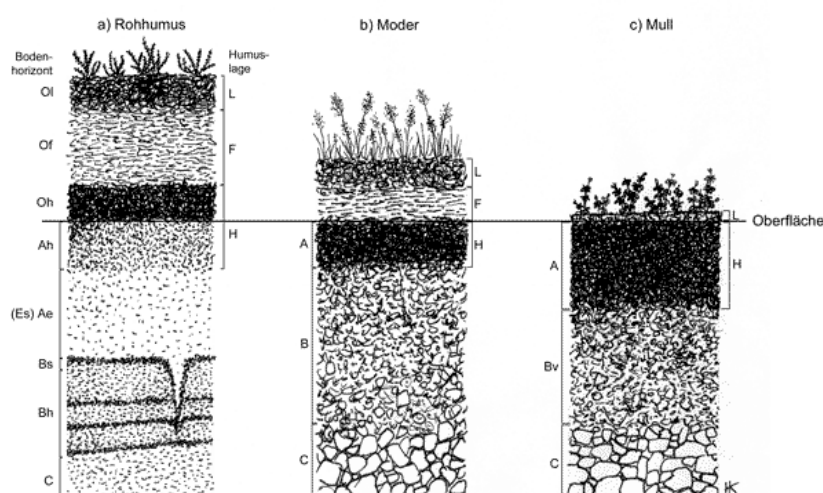
Doordat humus fungeert als ionenwisselaar en een groot waterabsorberend vermogen heeft is het een belangrijk element voor de bodem.

#### - Humuslagen

Het afgefallen materiaal afkomstig van de bomen wordt omgezet tot humus door ontbinding. De ontbinding kan evolueren door de activiteit van bodemflora en -fauna, wat grote veranderingen in de chemische en fysische eigenschappen van de stof met zich meebrengt. De snelheid en de wijze van afbraak is van verschillende factoren afhankelijk. Factoren die een grote invloed uitoefenen op de afbraak van de humus zijn bv. de zuurtegraad, vochtvoorziening, minerale rijkdom, licht en temperatuur. (Brady & Weil, 1996)

Humus bevindt zich in de bovenste laag van de bodem. De humuslaag bevindt zich onder de laag met afval van plantaardig en dierlijk materiaal (OL).

Deze humuslaag kan nog verder opgedeeld worden in verschillende lagen;



Figuur 2.2 Humuslagen

OF; In deze laag vindt de fragmentatie plaats. Dit is een fysisch proces dat door micro en macro organismen in stand gehouden wordt. De fragmentatie zal zorgen voor een oppervlaktevergroting van het materiaal, waardoor de afbraak en synthese beter zal verlopen. (Brady & Weil, 1996)

OH; In deze laag vindt de omzetting van organisch materiaal naar humus plaats. Deze omzetting bestaat uit processen van oxidatie, mineralisatie en humificatie. Schimmels en bacteriën zijn verantwoordelijk voor deze processen. Bij licht zure en alkalische bodems is de omzetting van organisch materiaal naar humus optimaal. (Brady & Weil, 1996)

OAh; Dit is het onderste gedeelte van de humuslaag, met een donker grijze kleur. Het is de onderste humuslaag en vormt zo een transitie laag tussen de humus en het minerale gedeelte in de bodem. Het gehalte aan humus ligt in deze laag lager door het reeds verder gevorderde mineralisatieproces. (Brady & Weil, 1996)

Bij het type van bebossing in Mol wordt er humus gevormd met labiele en wateroplosbare zuren, welke een verzurende werking hebben op de bodem, met lekkages van humus en nutriënten. Hierdoor is de microbiologische en dierlijke activiteit zeer laag, wat leidt tot een trage afbraak van de humus en dus een relatief groot gehalte aan humus in de bodem. (Janssens et al., 1999)

De staalname van de humus werd zodanig uitgevoerd dat er steeds een staal genomen werd met een gelijke en gekende oppervlakte. Zo zullen de resultaten van de stalen vergelijkbaar zijn.

### 2.2.2 Strooisel (litter)

Elke maand werden stalen genomen van de afgevallen materialen van de bomen, dit door middel van bemonsteringsbakken in het bos. Deze collectoren werden een maand lang geplaatst en nadien werd de inhoud geledigd en gesorteerd per groep. Deze indelingsgroepen zijn: naalden, dennenappels, schors, twijgen en bladeren. Onze analyses beperken zich tot de naalden.

### 2.2.3 Naalden

De naalden werden op 2 verschillende manieren bemonsterd.

Een deel werd elke maand bemonsterd door afschieten. Deze naalden werden dan voor elk monster op jaartal gesorteerd. Deze bemonsterde naalden zijn 1 tot 3 jaar oud.

Een ander deel werd bemonsterd toen enkele bomen geveld werden en is ook op leeftijd gesorteerd. Deze bemonsteringsmethode maakt het mogelijk om zo verse naalden te bemonsteren.

Naalden kunnen op leeftijd gescheiden worden doordat de takken na elk groei-jaar een verdikking hebben afkomstig van de bloeiknop.



Figuur 2.2 en 2.3 Jaarovergang bij naalden

### 3 Analytische methoden

#### 3.1 Klassieke methode

- Organische chloor (TOX)

De organische chloor kan bepaald worden door de extractie van chloride;

20 mg gemalen monster wordt toegevoegd aan 20 ml van een zure nitraat extractievloeistof (0,2 M KNO<sub>3</sub>, 0,02 M HNO<sub>3</sub>). De suspensie wordt ten minste 1 uur geschud (200 rpm). De suspensie wordt daarna gefiltreerd door een 0,45 µm polycarbonaat filter en gewassen met een zure nitraatoplossing (20 ml, 0,1 M KNO<sub>3</sub>, 0,01 M HNO<sub>3</sub>) gevolgd door een oplossing van zuur milli-Q water (20 ml, pH 2, HNO<sub>3</sub>). De detectie gebeurt met een Euroglas AOX analyseapparaat. Hier wordt de filter met filterkoek verbrand in een stroom van hete zuurstof (1000°C). De waterstofhalogenen die zo gevormd worden, kunnen bepaald worden d.m.v microcoulometrie met zilverionen. (Öberg, Holm, Sandén, Svensson & Parikka, 2005)

- Totaal chloor (TX)

De bepaling van het totale gehalte aan chloor gebeurt op een gelijkaardige manier. Hierbij wordt 20 mg van het monster in een kroesje gebracht en verbrand in het AOX analyseapparaat. Weer gebeurt er een omzetting van chloor naar de overeenkomstige waterstofhalogenen en kunnen deze laatste gedetecteerd worden door microcoulometrie. (Öberg, Holm, Sandén, Svensson & Parikka, 2005)

- Anorganisch chloor

Het gehalte aan anorganische chloor kan berekend worden a.h.v de totale chloor en de organische chloor. (Öberg, Holm, Sandén, Svensson & Parikka, 2005)

$$Cl^- = TX - TOX$$

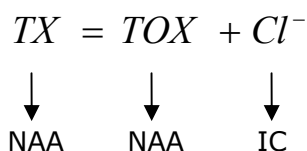
Het Euroglas AOX analyseapparaat is niet beschikbaar op het SCK, maar men wil wel gelijkaardige metingen uitvoeren. Er zal dus een alternatieve methode ontwikkeld moeten worden waarvoor de middelen beschikbaar zijn.

#### 3.2 Alternatieve methode

##### 3.2.1 Principe

De alternatieve methode maakt gebruik van een identieke monstervoorbereiding, maar zal neutronenactivatie en ionenchromatografie aanwenden voor de bepaling van de chloor.

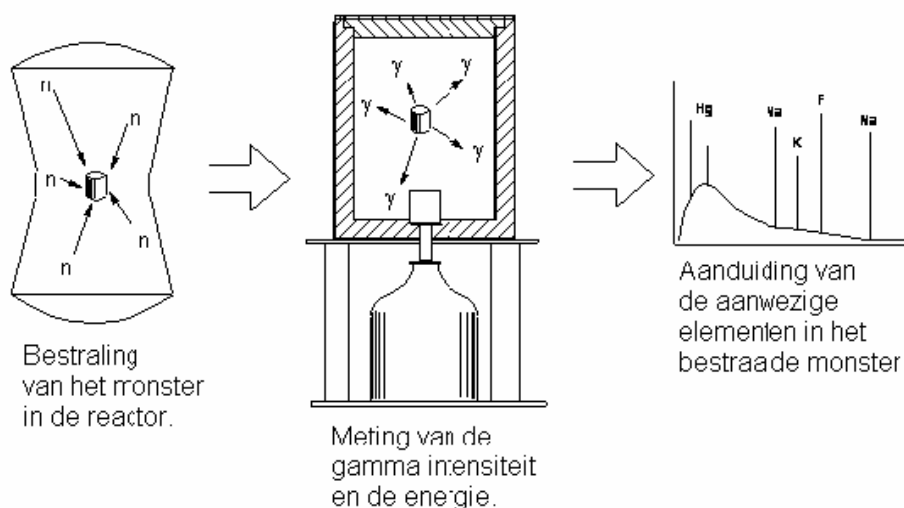
Het gehalte aan totale chloor wordt in eerste instantie gemeten door de NAA. Het monster ondergaat dan een extractie en filtratie om de fracties aan organische chloor en chloride te scheiden. Na de filtratie wordt er verwacht dat alle organische chloor in de filterkoek zit en alle chloride in het filtraat. Het gehalte aan chloride in het filtraat en organische chloor in de filterkoek kan zo gemeten worden met behulp van, respectievelijk, een IC- en een NAA- meting.



Omdat NAA metingen duur zijn wil men de NAA meting voor organisch chloor achterwege laten en het gehalte berekenen op basis van het TX- gehalte en het chloridegehalte. Dit is mogelijk indien de IC- meting van chloride zodanig geoptimaliseerd is dat ze juiste en betrouwbare chloridegehalten oplevert.

### 3.2.2 Neutronen activatie analyse

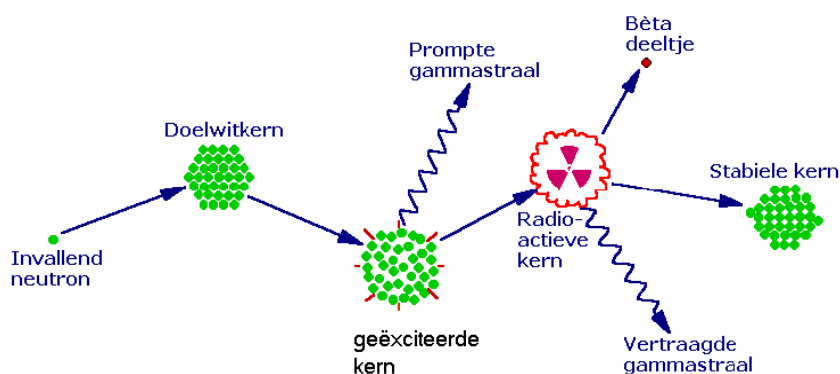
Neutronen activatie analyse (NAA) is een niet destructieve techniek. Met deze techniek is het mogelijk om kwantitatieve en kwalitatieve metingen uit te voeren zonder monstervoorbereiding. De techniek laat toe concentraties te meten van ppm en ppb. Sporenelementen kunnen zo gedetecteerd worden. De meeste elementen kunnen geactiveerd worden, sommigen echter niet. Dit doordat de vangstwerkzame doorsnede van die elementen te klein is. (Vermaercke, 2006)



Figuur 3.1 Neutronen activatie analyse

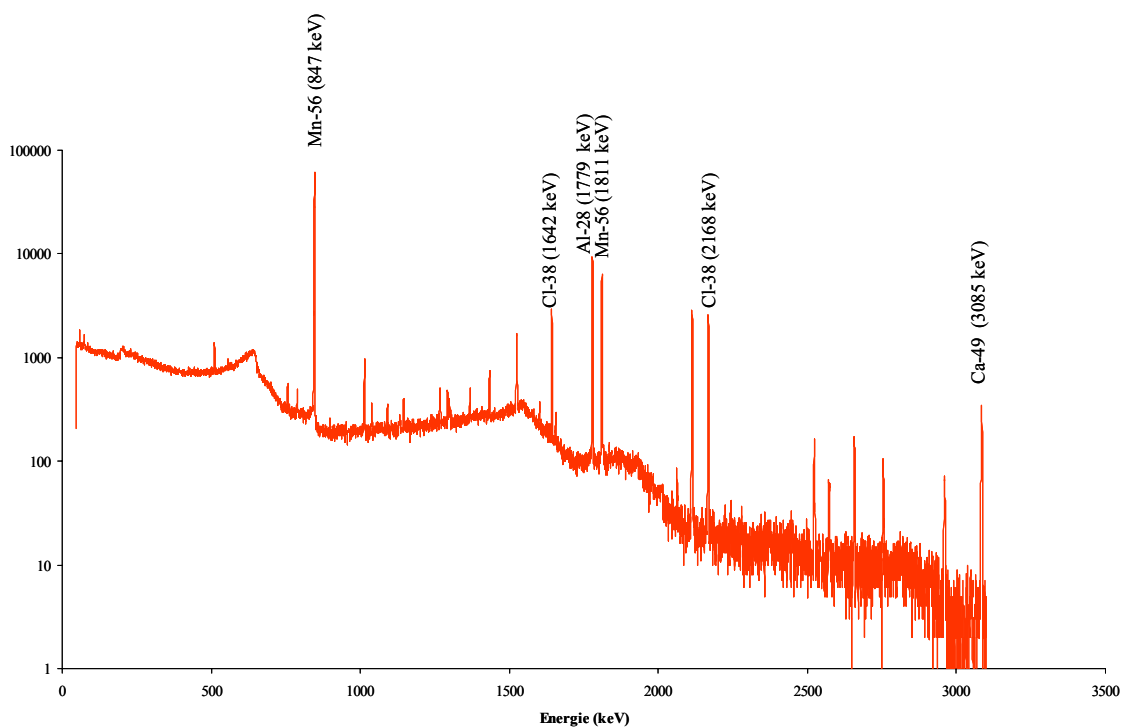
#### - Principe

Een monster wordt verpakt in een container uit kunststof en wordt zo in een kernreactor geplaatst, welke gebruikt wordt voor wetenschappelijk onderzoek. Het monster wordt bestraald met neutronen. Als een neutron een niet elastische botsing ondergaat met de kern van een element zal het deze kern exciteren. De geëxciteerde kern zal zijn teveel aan energie weer afstaan door prompte en vertraagde gammastraling uit te zenden. Deze straling kan gemeten worden door een halfgeleider detector. De detectie kan tijdens de bestraling of na de bestraling plaatsvinden, maar dan moet de halfwaardetijd exact gekend zijn. (Vermaercke, 2006)



Figuur 3.2 Principe NAA

Het resultaat van de meting wordt weergegeven in een soort chromatogram, welke te vergelijken is met een gaschromatogram. De positie van elke piek komt overeen met de energie van de uitgezonden straling. Deze energie is karakteristiek voor het gemeten element. De oppervlakte onder de piek is een maat voor de concentratie van het element.



Figuur 3.3 Spectrum NAA

De methode maakt geen onderscheid tussen verschillende oxidatietoestanden en zal dus elk element in zijn totale concentratie meten. Indien er enkel interesse is in de concentratie van een element met een bepaalde oxidatietoestand zal er dus in eerste plaats een scheiding uitgevoerd moeten worden. Deze scheiding zal ervoor moeten zorgen dat enkel de gewenste oxidatietoestand van het element in het monster aanwezig blijft.



## - Voordelen

De voordelen van NAA zijn:

- niet destructief: het geanalyseerde monster behoudt zijn oorspronkelijke staat (vloeibaar, vast, ...) wat het mogelijk maakt om het monster te heranalyseren. Dit wel na een bepaalde vervaltijd van het monster.
- naspeurbaar en hoge nauwkeurigheid: alle bronnen van systematische of toevallige onzekerheid zijn onder controle. NAA is één van de standaardmethodes die worden gebruikt voor de certificatie van referentiematerialen.
- hoog dynamisch bereik van concentraties en gewichten: analyse van zeer kleine monsters (vb. enkele milligram) of grote monsters is mogelijk.
- beperkte matrixeffecten: de chemische voorbereiding van het monster is miniem. Voor analyse van moeilijk oplosbare monsters is NAA een zeer goede methode.
- onafhankelijk van de chemische toestand: omdat NAA een fysisch nucleaire techniek is, is de matrix van het monster van geen belang.
- multi-element mogelijkheid: door de recentelijk geïntroduceerde k0 – standaardisatie is het mogelijk om de concentratie van alle elementen, ook de onverwachte, van het monster te bepalen.

## - Gebruik van NAA voor chloor

Chloor heeft 2 abundanties, het chloor-35 (75,77%) en het chloor-37 (24,23%). Dit zijn stabiele isotopen. Als deze isotopen aanwezig zijn in het monster zullen ze bestraald worden met neutronen. Door selectieve bestraling wordt enkel chloor-38 gevormd, deze actieve vorm van chloor heeft een halfwaardetijd van 40 minuten en kan dus gemeten worden met gammaspectrometrie.

Ar 36 0,337 $\sigma$ 5,6 $\tau_{1/2}$ 0,0055	Ar 37 35,0 d $\sigma$ no $\gamma$ $\tau_{1/2}$ 69 $\tau_{1/2}$ 1970	Ar 38 0,063 $\sigma$ 0,8	Ar 39 269 a $\beta^-$ 0,6 no $\gamma$ $\tau_{1/2}$ 600
Cl 35 75,77 $\sigma$ 43,7 $\tau_{1/2}$ 0,4 $\tau_{1/2}$ 0,00006	Cl 36 $3,0 \cdot 10^3$ a $\beta^-$ 0,7 $\alpha$ , $\beta^+$ no $\gamma$ $\sigma < 10$	Cl 37 24,23 $\sigma$ 0,42	Cl 38 37,18 m $\beta^-$ 4,9... $\gamma$ 2168, 1642...
S 34 4,21 $\sigma$ 0,29	S 35 87,5 d $\beta^-$ 0,2 no $\gamma$	S 36 0,02 $\sigma$ 0,23	S 37 5,0 m $\beta^-$ 1,8, 4,9... $\gamma$ 3103

Figuur 3.4 Deel van een nuclidenkaart

Voor onze metingen gaan we NAA aanwenden voor het detecteren van het totaal gehalte aan chloor in het monster en voor de detectie van organische chloor in het geëxtraheerde monster. Na deze analyses is het totaal gehalte aan chloor en het aandeel aan organische chloor gekend, daaruit kan dan het gehalte aan chloride berekend worden. De bekomen waarde voor chloride dient dan als referentie voor de waarde die gemeten wordt met de IC. Het is dan ook de bedoeling om de meetmethode met de IC zodanig te optimaliseren zodat de meting van het organische chloor met NAA weggelaten kan worden, om zo de kosten te drukken.

### 3.2.3 Ionenchromatografie (IC)

#### - Principe

Ionenchromatografie is een scheidingstechniek die berust op de verschillen in ladingsdichtheid tussen de ionen. Zowel eenvoudige ionen als complexe structuren kunnen goed gescheiden worden.

Ionenchromatografie maakt gebruik van een mobiele en een stationaire fase.

De stationaire fase is een ionenwisselaar, wat een hars is bestaande uit parels van polystyreen polymeer. Dit hars heeft ladingen waarop tegengesteld geladen groepen zullen binden. De lading van elke groep zal bepalen voor hoe lang de binding zal blijven bestaan; des te groter de affiniteit (grote bindingskrachten) voor de tegengestelde lading van het hars des te langer zal de groep gebonden blijven. Hierdoor zullen ze geëluëerd worden op verschillende retentietijden en zijn ze ook apart detecteerbaar.

De mobiele fase is een vloeistof, meestal water of een base. Bij de bepalingen van chloride wordt er een NaOH oplossing gebruikt. De hydroxiden van de NaOH oplossing zullen ook op het hars willen binden, zo ontstaat er een competitie tussen de mobiele fase en de componenten van het monster. De hydroxiden zullen andere componenten proberen te verdringen zodat deze geëluëerd zullen worden. De ionen met de minste affiniteit voor de ladingen van het hars zullen als eerste de kolom verlaten. Doordat alle ionen een andere affiniteit vertonen zal een scheiding kunnen plaatsvinden. Wanneer verschillende componenten een gelijkaardige affiniteit vertonen zal de methode aangepast moeten worden zodat de retentietijden niet samenvallen.

#### - Elutiemethoden

Er zijn 2 soorten elutiemethoden, een isocratische en een gradiënt methode. Voor de optimalisatie van de scheiding kan de elutiemethode aangepast worden.

Bij een isocratische elutie zal de concentratie aan NaOH steeds constant blijven, er wordt minder onderscheid gemaakt tussen goed elueerbare en minder elueerbare componenten. Hierdoor kunnen in complexe monsters de retentietijden en dus ook de pieken dichter opeen liggen, waardoor er overlappingen kunnen ontstaan. De berekende piekoppervlakten zijn dan niet meer juist.

Door een gradiënt methode toe te passen kan dit probleem verholpen worden. Bij deze methode zal de concentratie aan NaOH geleidelijk verhoogd worden tijdens de meting. In het begin van de meting zal de lage concentratie aan hydroxiden nog maar weinig competitie vertonen met de andere componenten, hierdoor zullen enkel de componenten met een lage affiniteit voor het hars reeds elueren. Wanneer de concentratie aan hydroxiden opgevoerd wordt gedurende de meting zal hiermee ook de competitie van hydroxide met de componenten stijgen en zo zullen de componenten met een grotere affiniteit voor het hars de kolom sneller verlaten.

#### - Matrix

De matrix is een  $\text{HNO}_3/\text{KNO}_3$ - oplossing. Deze wordt gebruikt opdat de extractie optimaal zou verlopen. Maar natuurlijk heeft deze oplossing een grote concentratie aan nitraationen. Hiermee zal rekening gehouden moeten worden tijdens de optimalisatie van de meetmethode.

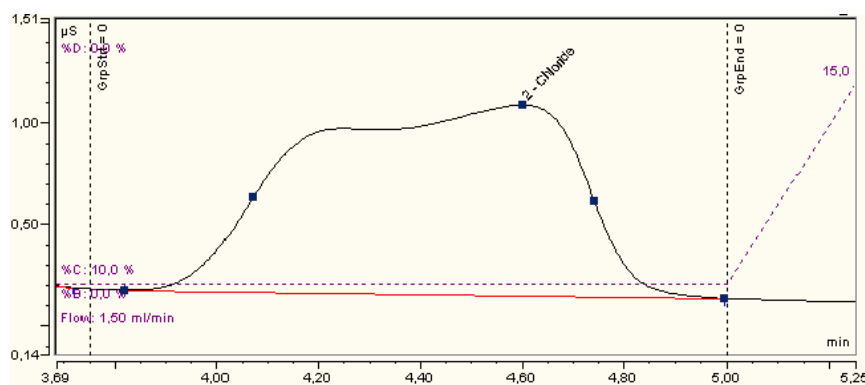
- Probleemstellingen bij de IC

1. Zijn er interferenties door toedoen van de matrix?
2. Wat met de resultaten van de IC-meting indien de extractie niet optimaal verlopen is?

### 1. Zijn er interferenties door toedoen van de matrix?

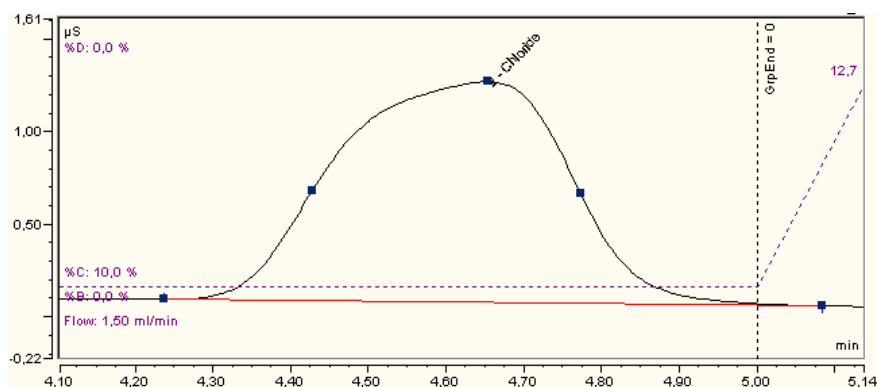
De gebruikte matrix kan interferenties veroorzaken.

Als matrix is er gebruik gemaakt van een  $\text{HNO}_3/\text{KNO}_3$ - oplossing. De nitraten die in de oplossing zitten zullen ook binden op de kolom. Doordat het hier om een hoge concentratie aan nitraat gaat ( $\sim 6200 \text{ ppm NO}_3^-$ ), zal deze de kolom kunnen satureren. Hiermee bedoelen we dat de ladingen op het hars in het begin van de kolom verzadigd zullen zijn met het nitraat. De andere componenten in oplossing zullen nog maar weinig kunnen binden en zullen zo voor een deel rechtstreeks geëluëerd worden. De capaciteit van de kolom is op dat moment eigenlijk te klein. Door deze saturatie met nitraat zal onze chloride piek geen goede vorm verkrijgen. De rechte en scherpe piek die normaal verkregen zou moeten worden zal vervormd zijn tot een platte en gedeukte piek. Dit doordat een deel van de chloride direct door het verzadigde deel van de kolom zal lopen en hierdoor te vroeg geëluëerd zal worden, terwijl een overig deel van de chloride even zal binden op het hars en pas iets later gedetecteerd zal worden. Het verschil tussen de pieken wordt aangetoond in figuren 3.5 en 3.6.



Figuur 3.5 Chloridepiek zonder verdunnen

Om een betere piek te bekomen kunnen we het monster verdunnen met milli – Q water. De matrix wordt mee verdund en zal zo minder invloed hebben op de kolom. We krijgen een betere piek. Maar geeft deze mooiere piek ook betere meetresultaten?



Figuur 3.6 Chloridepiek na verdunnen

Door de testmonsters zowel geconcentreerd als verdund te meten werd het mogelijk de variatie tussen de verschillende metingen te vergelijken. Dit gaf als resultaat dat er geen verschil is bij geconcentreerde of verdunde metingen. (zie bijlage 1) Een verdunning maken om een mooiere piek te verkrijgen is dus niet noodzakelijk, maar kan wel aangewend worden wanneer er bijvoorbeeld maar weinig monster beschikbaar is.

## 2. Wat met de resultaten van de IC-meting indien de extractie niet optimaal verlopen is?

Indien de extractie niet optimaal verlopen zou zijn, bestaat de kans dat organische chloorverbindingen ook aanwezig zijn in het filtraat. Dit filtraat wordt gemeten met de IC om zo het gehalte aan chloriden te bekomen. Moesten er ook organochloor - verbindingen aanwezig zijn in het filtraat dan kunnen deze reageren met de mobiele fase (natriumhydroxide).



Zo wordt er chloride gevormd waardoor een te hoog gehalte gemeten zal worden. Dit alles blijft echter onopgemerkt, omdat de totale som aan chloor in het monster blijft kloppen. Er zal immers gewoon een hoger gehalte aan chloride gemeten worden en een lager gehalte aan organisch chloor.

Maar planten kunnen nog andere organochloorverbindingen bevatten die waarschijnlijk niet allemaal op eenzelfde manier zullen reageren. Het kan dus evengoed zijn dat de aanwezige organochloorverbindingen niet reageren en dus geen interferentie vormen bij de IC meting.

Een controletest hebben we hiervoor niet uitgevoerd. Dit omdat de extractiemethode deels uit de literatuur komt en er verwacht wordt dat deze optimaal zal verlopen. Ook was de benodigde apparatuur voor deze analyses niet aanwezig.

### 3.2.4 Werkwijze

Onderstaande werkwijze werd in de literatuur teruggevonden (Johansson, Ebenå, Sandén, Svensson & Öberg, 2001) en werd in de eerste fase van deze studie zo toegepast.

- Totaal chloor (TX)

Een gemalen en nog onbewerkt monster wordt geactiveerd door NAA. Het totaal gehalte aan chloor wordt zo gemeten.

- Anorganische chloor

20 mg gemalen en gedroogd monster wordt samen met 50 mg actieve kool toegevoegd aan 50 ml van een zure nitraatoplossing (0,2 M  $\text{KNO}_3$ , 0,02 M  $\text{HNO}_3$ ). De suspensie wordt ten minste 1 uur geschud (200 rpm). Daarna wordt de suspensie gefiltreerd op een 0,45  $\mu\text{m}$  polycarbonaat filter en gewassen met een zure nitraatoplossing (0,01 M  $\text{KNO}_3$ , 0,001 M  $\text{HNO}_3$ ) gevolgd door een oplossing van zuur milli-Q water (10 ml, pH 2,  $\text{HNO}_3$ ).

Het filtraat wordt opgevangen en hiervan kan het aanwezige gehalte aan chloride gemeten worden met IC.

Opmerking bij de werkwijze: Aangezien er geen polycarbonaat filters aanwezig waren in het labo werd in eerste instantie gebruik gemaakt van 0,45  $\mu\text{m}$  HA filters.

- Organische chloor (TOX)

De filterkoek met filter wordt geactiveerd met NAA om zo een referentie te hebben voor het gehalte aan organisch chloor.

Het is de bedoeling om deze meting te kunnen laten wegvallen en om het gehalte aan organische chloor te kunnen berekenen uit de totale chloor en de anorganische chloor.

### **3.2.4.1 Probleemstellingen bij de methode**

Bij deze opgestelde methode werden al direct enkele problemen vastgesteld gedurende de testfase.

1. De filter bevat chloor.
2. Het actieve kool bevat chloor.
3. Kan het actieve kool weggelaten worden?
4. De detectielimiet van de IC wordt niet bereikt.
5. De naalden kunnen bijna niet gefiltreerd worden met de polycarbonaat filters.

#### **1. De filter bevat chloor**

Doordat de filter mee geactiveerd zal worden, mag er zeker geen chloor in de filter zitten. Dit is dan ook getest door een activatie uit te voeren op een HA filter. De testresultaten geven aan dat de HA filter wel degelijk chloor bevat (zie bijlage 2). Het is dus toch nodig polycarbonaat filters aan te kopen en te gebruiken.

#### **2. Het actieve kool bevat chloor**

Omdat actieve kool bekend staat voor zijn vangende werking van (gasvormige) producten werd het getest op de aanwezigheid van chloor. Een NAA wees uit dat het actieve kool wel degelijk chloor kan bevatten. Dit geeft een extra onzekerheid op de metingen, welke het liefst vermeden wordt. Daarom speelde de vraag of het actieve kool niet gewoon weggelaten kon worden in de methode.

#### **3. Kan het actieve kool weggelaten worden in de methode?**

Monsters werden gemeten met en zonder actieve kool. Er werd geen verschil bemerkt, dus de actieve kool bevordert de doeltreffendheid van de extractie niet. Het actieve kool kan dus weggelaten worden bij de eigenlijke extracties, om zo bijkomende onzekerheden te vermijden. (zie bijlage 3)

#### **4. De detectielimiet van de IC wordt niet bereikt**

Er wordt gebruik gemaakt van zeer kleine hoeveelheden monster. Hierdoor is de concentratie aan chloride in de extractieoplossing zeer laag en wordt de detectielimiet van de IC niet bereikt. De hoeveelheid monster zal dus verhoogd moeten worden.

Uiteindelijk werd in een andere studie een werkwijze gevonden waarbij gebruik gemaakt werd van 5 g monster en 70 ml oplossing. Deze verhouding is beter, maar door een beperkte hoeveelheid monster zal er gebruik gemaakt worden van 1 g monster en 20 ml oplossing.

#### **5. De naalden kunnen bijna niet gefiltreerd worden door de polycarbonaat filters**

De polycarbonaat filters vertoonden geen problemen bij een extractie met weinig monster, maar bij gebruik van 1 g monster verstopt de filter onmiddellijk wanneer een suspensie van naalden gefiltreerd moet worden. Waarschijnlijk zullen de harsen aanwezig in de naalden de poriën van de filter direct doen verstopen. Bij de HA filters werden er geen problemen door verstopping vastgesteld, maar bij deze filters is aangetoond dat ze chloor bevatten waardoor geopteerd werd voor de polycarbonaat filters waarin chloor afwezig is. Maar komt de chloor uit de HA- filters ook vrij tijdens de extractie?

Na verschillende testen kon er besloten worden dat het aanwezige chloor in de filter niet mee geëxtraheerd werd (zie bijlage 2), maar dat de filter wel gescheiden moet worden van de filterkoek voordat een NAA kan plaatsvinden. Doordat we overgeschakeld zijn op een grotere hoeveelheid monster is dit nu wel mogelijk. Na het schudden wordt er nog een centrifugatie ingevoerd om zo de filtratie en het wassen beter te laten verlopen.

### 3.2.4.2 Herwerkte werkwijze

De methode voor de totale chloor blijft onveranderd.

- Anorganische chloor

**1 g gemalen** en gedroogd monster wordt toegevoegd aan **10 ml** van een zure nitraatoplossing (0,2 M  $\text{KNO}_3$ , 0,02 M  $\text{HNO}_3$ ). De suspensie wordt ten minste 1 uur geschud (200 rpm), waarna 10 min. gecentrifugeerd (5000 rpm). Daarna wordt de suspensie gefiltreerd op een 0,45  $\mu\text{m}$  **HA filter** en gewassen met 10 ml van een zure nitraatoplossing (**0,02 M  $\text{KNO}_3$ , 0,002 M  $\text{HNO}_3$** ). Het filtraat wordt opgevangen en hiervan kan het aanwezige gehalte aan chloride gemeten worden met de IC.

Een bijkomende verandering is het gebruik van de extractieoplossing als wasoplossing. Dit gewoon omdat het makkelijker is en omdat het niet nadelig is voor het wassen.

- Organische chloor

De filterkoek wordt van de filter gescheiden en geactiveerd met NAA om zo een referentie te hebben voor het gehalte aan organische chloor. Het is de bedoeling om deze meting te kunnen laten wegvallen en om het gehalte aan organische chloor te kunnen berekenen uit de totale chloor en de anorganische chloor.

### 3.2.4.3 Malen

De monsters moeten op voorhand allemaal gemalen worden, dit om een zo groot mogelijk contactoppervlak te creëren voor de extractie. Hierdoor zal de uitwisseling van chloride met ionen uit de oplossing optimaal verlopen.

### 3.2.4.4 Extractie

De monsters worden geëxtraheerd met een  $\text{HNO}_3/\text{KNO}_3$  – oplossing. De ionen van de oplossing ( $\text{H}^+$  en  $\text{K}^+$ ) worden uitgewisseld met de chloride ionen van het monster. Na deze extractie zal een volledige uitwisseling opgetreden zijn.

### 3.2.4.5 Filtratie

Vooraleer de filtratie uit te voeren wordt de suspensie eerst gecentrifugeerd, dit om de filtratie te vergemakkelijken. De twee fasen worden daarna gescheiden door filtratie. De filterkoek zal al de organische chloor bevatten. Het filtraat bevat al de chloride. De filterkoek wordt gewassen met de extractieoplossing om een volledige scheiding te verzekeren.

## 4 Verwerking van de resultaten

### 4.1 Naalden

#### 4.1.1 Testresultaten van de methode

De testresultaten voor de naalden gaven telkens een te hoog gehalte voor chloride gemeten met IC. Hierdoor zal het berekende gehalte aan organische chloor negatief zijn. Wanneer de controlemeting met NAA werd uitgevoerd, werden andere waarden verkregen. Dit werd vastgesteld bij zowel de naalden ouder dan 1 jaar als de naalden jonger dan 1 jaar.

Tabel 4.1 Testresultaten van de naalden jonger dan 1 jaar

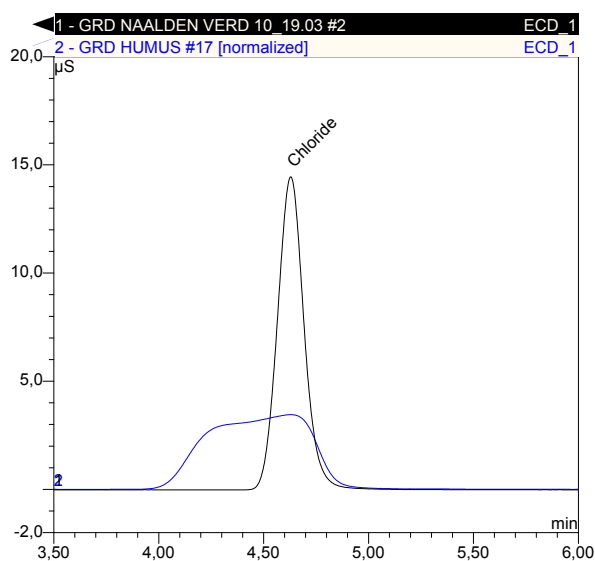
methode	NAA	IC	berekend	NAA
monster	totaal Cl µg/g	chloride µg/g	org. chloor µg/g	org. chloor µg/g
a	496	531,1	-35,1	62
b	501	513,7	-12,7	61
c	488	586,6	-98,6	79

Tabel 4.2 Testresultaten van de naalden ouder dan 1 jaar

methode	NAA	IC	berekend	NAA
monster	totaal Cl µg/g	chloride µg/g	org. chloor µg/g	org. chloor µg/g
a	502	557,4	-55,4	71
b	498	526,1	-28,1	74
c	498	534,1	-36,1	61

De reden waarom de IC- meting steeds een te hoge waarde geeft is onbekend, maar zou kunnen verklaard worden door het effect van componenten aanwezig in verse naalden.

In 3.2.3 hadden we al aangehaald dat de piek voor chloride niet scherp is (vanwege de matrix) en dat we door verdunning van het extract een scherpere piek krijgen. Dat deze onscherpe pieken geen interferentie verbergen is aan te tonen door ook de piek van een standaard uit te zetten.



Figuur 4.1 Vergelijking van de pieken van een 10 ppm standaard in een onverdunde (blauw) en 10x verdunde matrix (zwart)

Er is dus geen verschil te bemerken tussen de chloride- piek van de standaard (figuur 4.1) en de chloride- piek van het monster (figuur 3.5). Dus de onscherpe piek zal veroorzaakt worden door de extractieoplossing en niet door interferentie. Indien er toch een interferentie in de chloride- piek van het monster zou zitten is deze niet waar te nemen en zal de methode meer geoptimaliseerd moeten worden om deze interferentie zichtbaar te maken.

Er werden geen verdere metingen uitgevoerd voor de monsters van de verse naalden.

#### 4.1.2 Resultaten

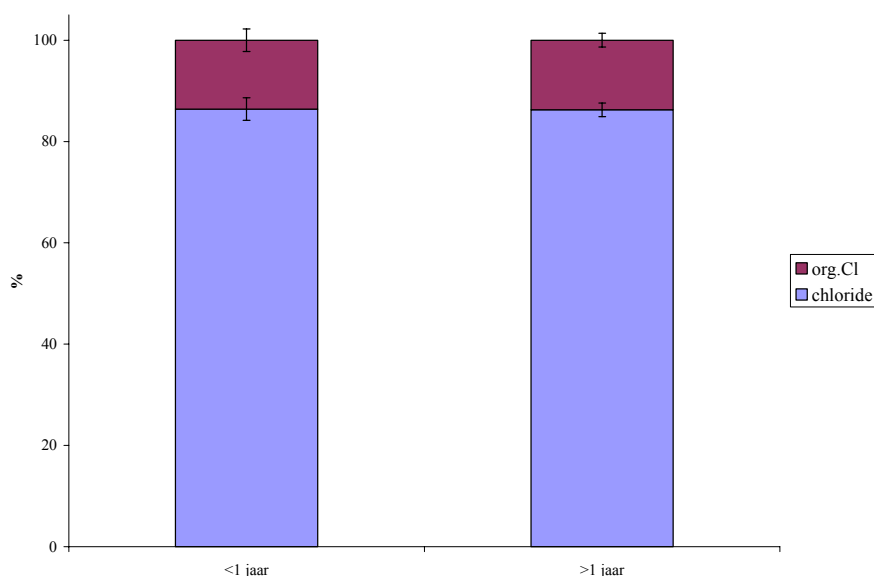
Er kan besloten worden dat de methode met de IC niet gebruikt kan worden voor meting van de verse naalden, maar de verkregen resultaten van het gehalte aan totaal chloor en organische chloor met de NAA zijn natuurlijk wel bruikbaar. Uit deze waarden kan het gehalte aan chloride berekend worden. (Tabel 4.3)

Tabel 4.3 Resultaten van de naalden met NAA  
(gemiddelde  $\pm$  st.dev. en range)

methode	NAA	NAA	berekend
monster	totaal chloor $\mu\text{g/g}$	org. chloor $\mu\text{g/g}$	chloride $\mu\text{g/g}$
naalden < 1j	495 $\pm$ 7 (488-501)	67 $\pm$ 10 (79-62)	428 (409-440)
naalden > 1j	499 $\pm$ 2 (498-502)	69 $\pm$ 7 (61-74)	431 (424-437)

Als de gehalten aan chloor van de naalden jonger dan 1 jaar vergeleken worden met de waarden van de naalden ouder dan 1 jaar kunnen we besluiten dat er geen verschil is tussen de gehalten aan chloor.

In figuur 4.2 wordt elke voorkomingsvorm van chloor weergegeven als percentage van het totale chloor. Het is duidelijk dat de organische chloor slechts een klein percentage vertegenwoordigt ( 13,6% en 13,8% voor, respectievelijk, de naalden jonger dan 1 jaar en ouder dan 1 jaar) en dat er tussen de naalden van beide leeftijden geen verschil is.



Figuur 4.2 Procentuele bijdrage van elke voorkomingsvorm van chloor per leeftijd van de naalden



### 4.1.3 Vergelijking met de literatuur

De meetwaarden van de NAA kunnen we vergelijken met de literatuur.

Öberg (2003) stelt dat het gehalte aan organische chloor in naalden in een range van 10-100  $\mu\text{g Cl}_{\text{org}}/\text{g}$  ligt. Onze waarden voor organische chloor in naalden liggen binnen deze range.

### 4.1.4 Besluit

De methode met de IC is niet bruikbaar voor verse naalden, maar de waarden gemeten met de NAA kunnen wel gebruikt worden om een vergelijking te hebben met de literatuur. Het gemeten gehalte aan organische chloor in de naalden ligt binnen de range die de literatuur aangeeft.

## 4.2 Strooisel

### 4.2.1 Testresultaten

Om het gehalte aan organische chloor en chloride te bepalen in het strooisel werd ook hierop een extractie uitgevoerd. Controlemetingen voor het gehalte aan organische chloor werden uitgevoerd op de filterkoeken met NAA.

Onderstaande tabel geeft weer dat de controlemetingen bevestigen dat de methode toegepast met de IC goede resultaten geeft.

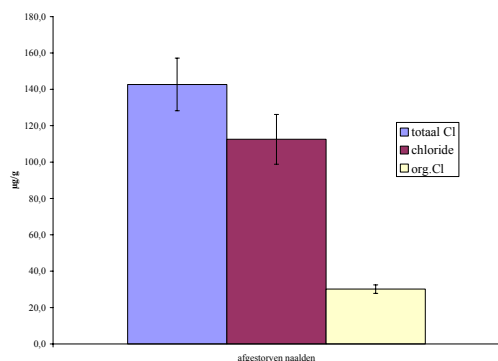
Tabel 4.4 Resultaten en controlemetingen van de naalden in het strooisel

methode	NAA	IC	berekend	NAA
monster	totaal chloor $\mu\text{g/g}$	chloride $\mu\text{g/g}$	org. chloor $\mu\text{g/g}$	org. chloor $\mu\text{g/g}$
a	126	96,8	29,2	32,6
b	150	121,6	28,4	33,2
c	152	119,2	32,8	31,2
gemiddelde $\pm$ st.dev.	143 $\pm$ 14	112,5 $\pm$ 13,7	30,1 $\pm$ 2,4	32,3 $\pm$ 1,1

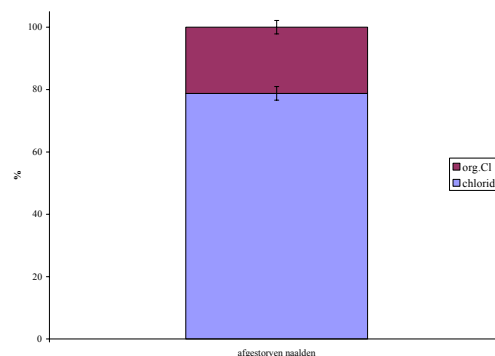
Het gemiddelde verschil tussen het berekende gehalte en het gemeten gehalte aan organisch chloor bedraagt 2,2  $\mu\text{g/g}$ . Er kan dus gesteld worden dat de methode geschikt is voor de naalden uit het strooisel.

### 4.2.2 Interpretatie van de resultaten

De naalden werden van de andere aanwezige materialen in het strooisel gescheiden, zo kunnen de aanwezige gehalten aan chloor voor de naalden onderling vergeleken worden.



Figuur 4.3 Vergelijking van de gehalten aan chloor in de naalden van het strooisel



Figuur 4.4 Procentuele bijdrage van elke voorkomingsvorm van chloor in de naalden van het strooisel

Wanneer de verschillende voorkomingsvormen van chloor in percentage uitgedrukt zijn kan afgeleid worden dat het percentage aan chloride (78,4%) 3 tot 4 keer groter is dan dat van organische chloor (21,6%) in de afgestorven naalden. (figuur 4.4)

#### 4.2.3 Vergelijking met de literatuurwaarden

De bekomen waarden van het strooisel voor de bemonsteringsplaats in Mol werden weergegeven in tabel 4.3

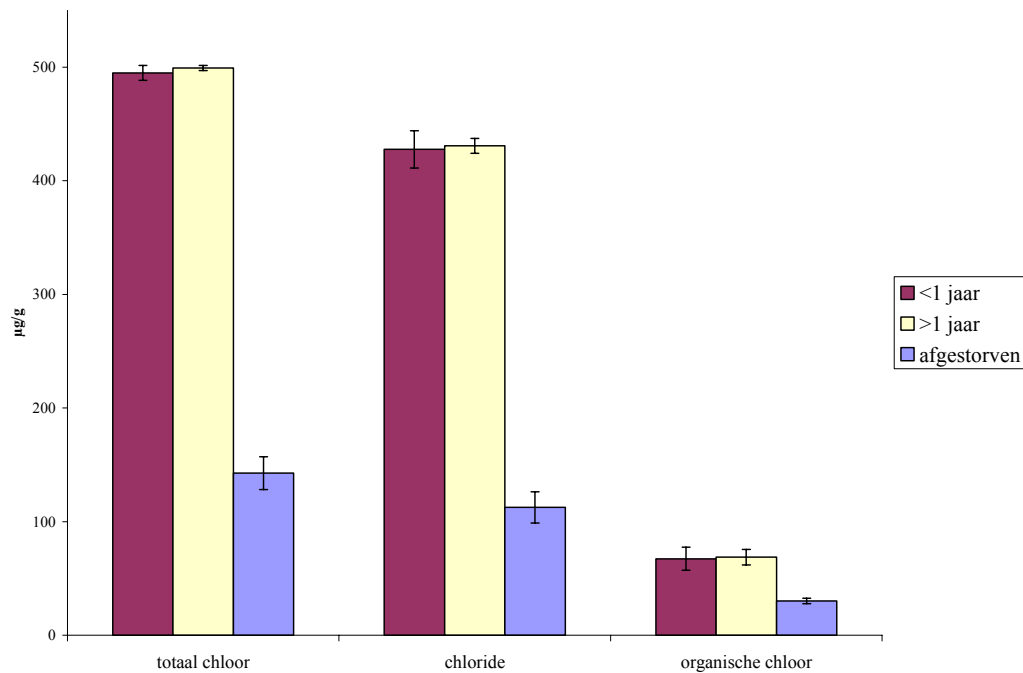
De literatuur geeft aan dat het gemiddelde gehalte voor organische chloor in naalden van strooisel  $100 \mu\text{g Cl}_{\text{org}}/\text{g}$  bedraagt. (Öberg, 2003) Deze waarde is echter veel hoger dan onze bekomen waarde ( $30,1 \pm 2,4 \mu\text{g Cl}_{\text{org}}/\text{g}$ ).

Dit kan komen doordat de literatuurwaarde het gemiddelde weergeeft van alle gekende waarden op verschillende bemonsteringsgebieden.

Een andere hypothese die het verschil tussen de literatuurwaarde en de bekomen waarde zou kunnen verklaren is de ophaaltermijn van het bemonsterde strooisel. Op de bemonsteringsplaats in Mol werd het bemonsterde strooisel elke maand verzameld, in andere studies verzamelen ze het bemonsterde strooisel pas om de 3 maanden. Het verschil in ophaaltijd zou ook een invloed kunnen hebben op de aanwezige gehalten aan chloor.

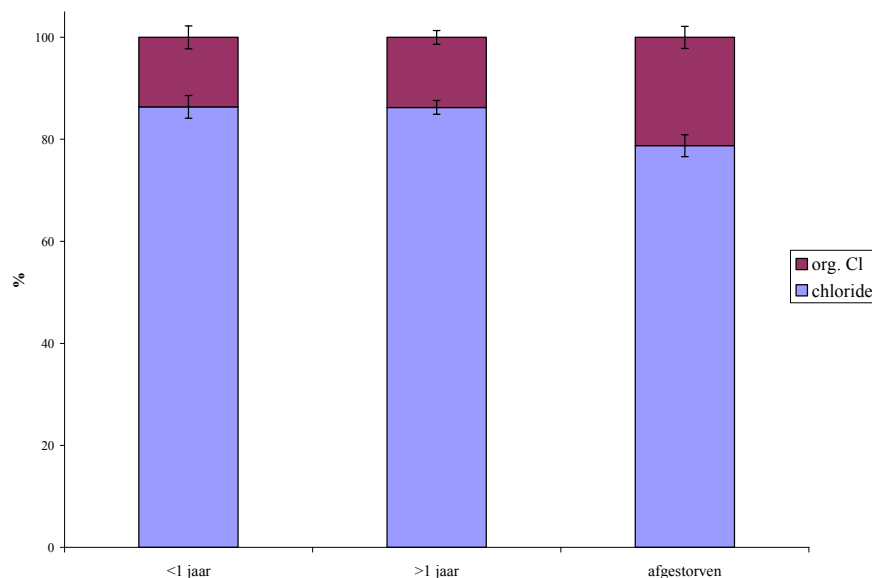
#### 4.2.4 Vergelijking van de afgestorven naalden met de verse naalden

Door de waarden voor chloor in de verse naalden en de afgestorven naalden te vergelijken kan er een beeld gevormd worden van de verandering van het gehalte aan chloor bij het afsterven van plantenmateriaal.



Figuur 4.5 Vergelijking van de naalden jonger dan 1 jaar, ouder dan 1 jaar en afgestorven naalden

Figuur 4.5 geeft in eerste instantie nog eens duidelijk weer dat er geen significant verschil is tussen de naalden jonger dan 1 jaar en ouder dan 1 jaar. Het grootste verschil is zichtbaar tussen de verse naalden en de afgestorven naalden. Voor het gehalte aan totale chloor en chloride ligt de verhouding tussen verse naalden en afgestorven naalden tussen de 3-4, voor organische chloor bedraagt deze verhouding 2. Er zal met andere woorden een algemene daling zijn van chloor in de afgestorven naalden.



Figuur 4.6 Vergelijking van de procentuele bijdrage van de voorkomingsvormen bij de verse naalden en de afgestorven naalden

Wanneer de procentuele waarden van de verse naalden en de afgestorven naalden vergeleken worden kan men afleiden dat er een kleine stijging ( $\sim 10\%$ ) is in de procentuele aanwezigheid van organische chloor bij de afgestorven naalden. Gaande van  $\sim 13\%$  voor de verse naalden jonger dan 1 jaar tot  $\sim 22\%$  voor de afgestorven naalden. Uiteraard is er dan automatisch een daling van  $\sim 10\%$  in de procentuele aanwezigheid van chloride. (figuur 4.6)

#### 4.2.5 Besluit

Bij het afsterven van de naalden is er een duidelijke daling van het gehalte aan totaal chloor. Wanneer de naalden afsterven hebben ze geen chloride meer nodig voor bepaalde interne processen, waardoor het gehalte zal dalen. Ook zal naar alle waarschijnlijkheid een deel van de chloride door erosie uitgespoeld worden. Wanneer de procentuele bijdrage per voorkomingsvorm vergeleken wordt met dat van de verse naalden bemerken we een verschil van 10%. Deze verandering van de voorkomingsvormen kan dus ontstaan door uitloging van de chloride en eventueel omzetting van chloride in organisch chloor.

### 4.3 Humus

#### 4.3.1 Testresultaten van de methode

Humus is gemakkelijk te filtreren en goed te wassen. Deze methode stond voor dit monster het snelst op punt aangezien er zich geen moeilijkheden hebben voorgedaan. Alle stappen van de werkwijze verliepen direct zeer vlot. Ook de testmetingen gaven onmiddellijk een goed resultaat.

Voor de testmetingen vertrekken we vanuit een bulkstaal. Hierdoor verkrijgen we dezelfde waarden voor de meting van het totale chloorgehalte.

Tabel 4.4 Testresultaten van de methode op humus

methode	<i>NAA</i>	<i>IC</i>	<i>berekend</i>	<i>NAA</i>
monster	totaal chloor ( $\mu\text{g/g}$ )	chloride ( $\mu\text{g/g}$ )	org. chloor ( $\mu\text{g/g}$ )	org. chloor ( $\mu\text{g/g}$ )
a	232	63,4	168,6	173
b	232	59,9	172,1	174
c	232	60,2	171,8	173
gemiddelde $\pm$ st.dev.	232	$61,1 \pm 1,9$	$170,8 \pm 1,9$	$173,3 \pm 0,6$

De testresultaten van de IC metingen hebben een standaard afwijking van  $1,9 \mu\text{g/g}$ . Deze afwijking toont aan dat zowel de extractie als de IC meting een goede herhaalbaarheid heeft.

Wanneer we de berekende gehalten voor organische chloor gaan vergelijken met de bekomen waarden via de NAA- meting bekomen we een gemiddeld verschil van  $2,5 \mu\text{g Cl}_{\text{org}}/\text{g}$ . Het berekende gehalte aan organische chloor (uit het gemeten totaal chloorgehalte en het gemeten chloridegehalte) komt dus goed overeen met de waarde aan organische chloor gemeten met de NAA.

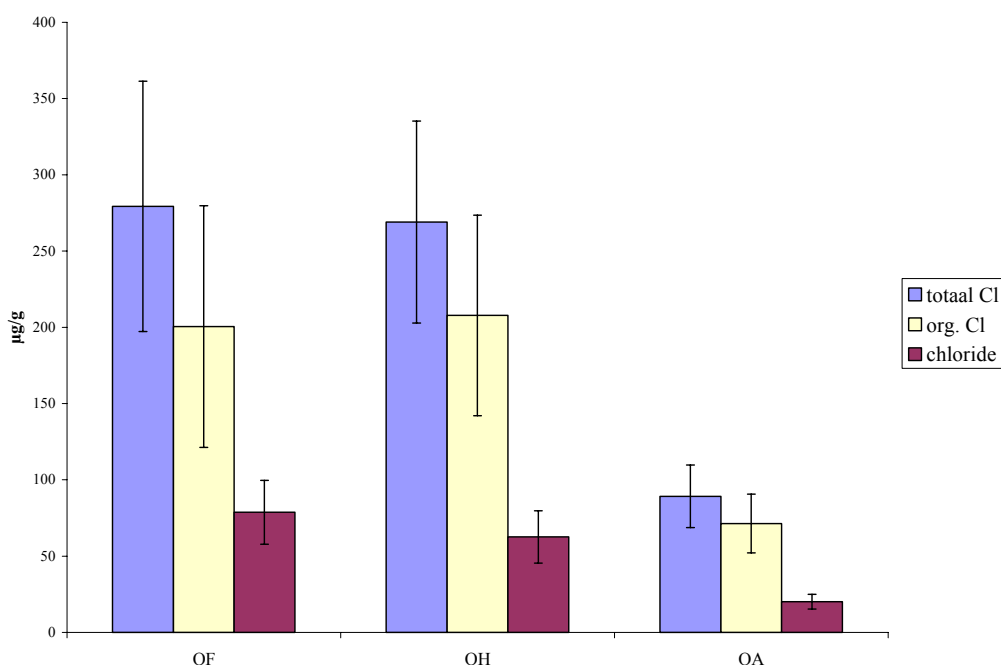
### 4.3.2 Toepassing van de methode

Op het bemonsteringsgebied werden 10 monsters genomen met een gekende oppervlakte, deze monsters werden verdeeld in 3 subsamples (de 3 lagen; OF, OH en OA). De monsters zijn wel in hetzelfde bos genomen, maar er zitten grote verschillen op de monsters onderling. Dit verschil wordt reeds duidelijk door meting van de totale chloor met NAA. (figuur 4.7)

Uit het gemiddelde van de totale chloor (figuur 4.7) wordt duidelijk dat het totale gehalte daalt met de diepte. De meeste chloor bevindt zich dus in de twee bovenste lagen, dit zijn de lagen met het meeste organisch materiaal.

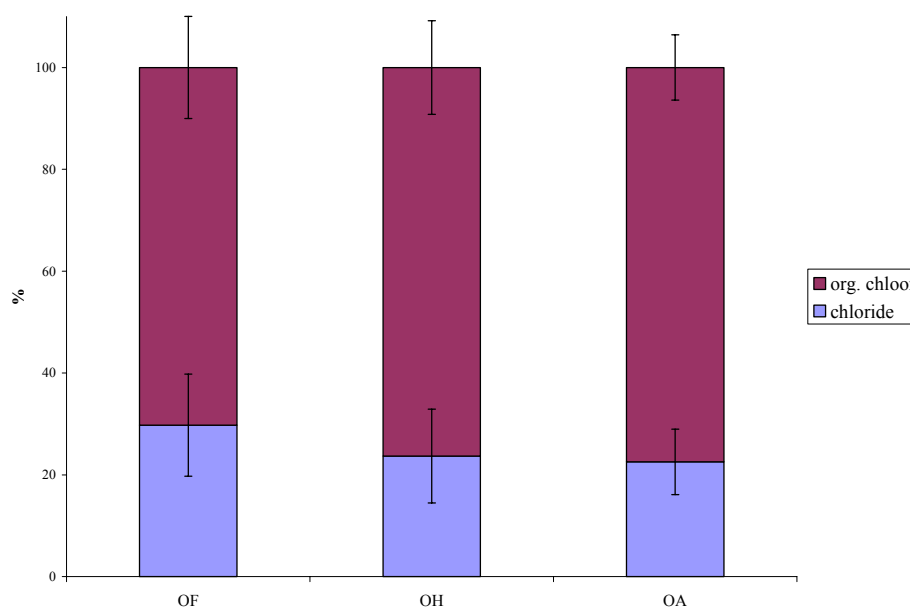
Het verschil in totale chloor is zeer klein tussen de OF- en de OH- laag. Deze trend zet zich verder in de resultaten van de organische chloor en de chloride. Het kleine verschil tussen deze lagen is te verklaren door het minieme verschil in het aanwezige gehalte organische materie.

Het verschil in totaal chloor tussen de OA- laag en de twee bovenste (OF + OH) lagen is groter. Weer zet deze trend zich verder voor de gehalten aan organische chloor en chloride. Het verschil in de aanwezige organische materie is dus groter tussen de 2 bovenste lagen en de OA- laag.



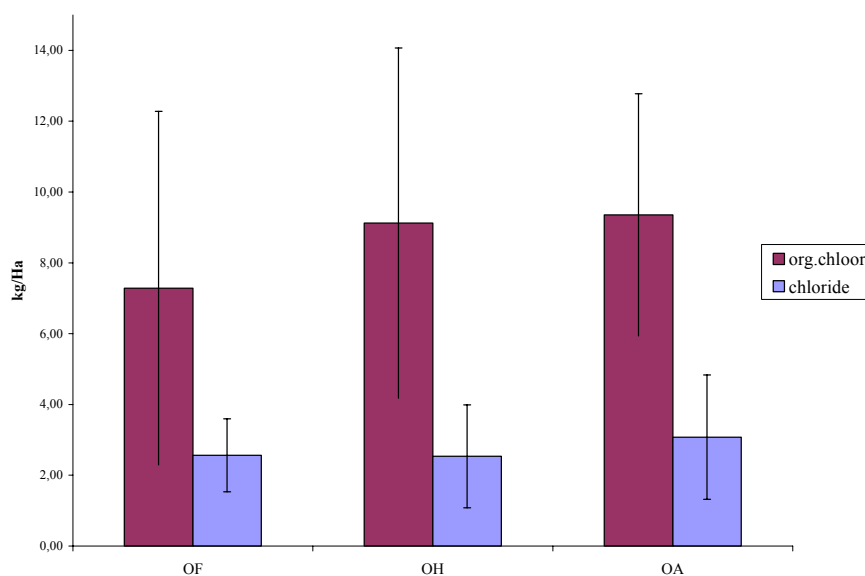
Figuur 4.7 Gemiddelde van de totale chloor, chloride en organische chloor per laag

Door de aanwezige percentages van elke vorm van chloor te vergelijken (figuur 4.8) kan er gesteld worden dat de percentages in elke laag ongeveer gelijk zijn. Er is dus een verschil in het aanwezige gehalte totale chloor, maar de verschillende lagen hebben ongeveer eenzelfde percentage voor elke voorkomingsvorm van chloor.



Figuur 4.8 Percentage van elke voorkomingsvorm van chloor per laag

In de literatuur worden verschillende eenheden door elkaar gebruikt. Om de bekomen resultaten te kunnen vergelijken met de gegevens uit de literatuur zal er dus eerst een omzetting moeten gebeuren naar de gebruikte eenheden. Deze omzetting vindt plaats van  $\mu\text{g/g}$  naar  $\text{g/m}^2$  en  $\text{kg/Ha}$ . Dit is mogelijk doordat het droog gewicht en de oppervlakte van het monster gekend zijn. Doordat niet enkel de diktes van elk monster sterk verschillen, maar ook de dichtheid binnen de laag zal de range van de berekende waarden zeer groot zijn.

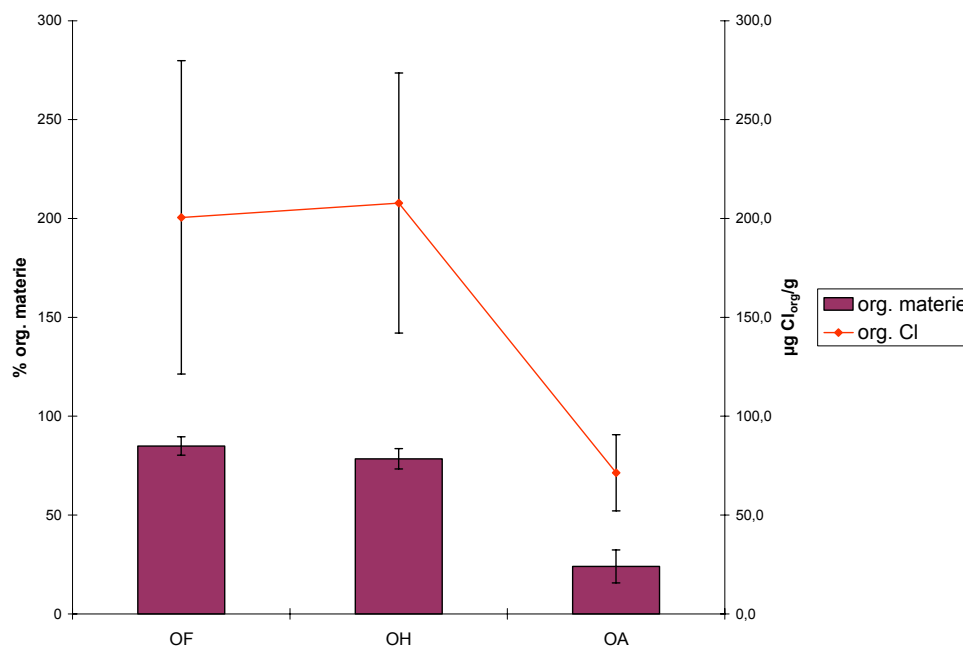


Figuur 4.9 Aandeel chloride en organische chloor per laag en per hectare

Figuur 4.9 geeft aan dat er per hectare grond meer organische chloor aanwezig is dan chloride. En dit voor elke laag. Ook is duidelijk te zien dat het gehalte aan organische chloor het hoogst is in de OA en de OH- lagen en dat er niet veel verschil is tussen de waarden van deze 2 lagen. Maar de gehalten in elke laag worden gekenmerkt door een zeer grote standaarddeviatie.

Voor elke bodemlaag ligt de verhouding van organische chloor en chloride tussen de 3 à 4.

Figuur 4.10 geeft duidelijk weer dat het gehalte aan organische chloor en het percentage aan organische materie aanwezig dezelfde trend vertonen. Deze resultaten bevestigen de stelling dat het organische chloor een onderdeel is van de organische materie. (Öberg et al., 2005)



Figuur 4.10 Vergelijking tussen de organische materie en de organische chloor in de humuslagen

#### 4.3.3 Vergelijking met de literatuur

De bekomen resultaten kunnen weergegeven worden voor de O-laag (lagen OF en OH) of voor de gehele bemonsterde laag. De resultaten worden weergegeven door de mediaan, dit om een goede vergelijking te hebben met de literatuurwaarden die ook zo weergegeven worden.

Tabel 4.5 Resultaten van humus, weergegeven door de mediaan en de range

diepte	chloride (µg/g)	Org.chloor (µg/g)	vegetatie
O- horizon (0-6 cm)	70 (30-115)	196 (121-362)	naaldbomen
0-8 cm	58 (13-115)	144 (44-362)	naaldbomen

Deze waarden kunnen vergeleken worden met de literatuurwaarden.

Tabel 4.6 Literatuurwaarden van humus, weergegeven door de mediaan en de range

diepte	chloride (µg/g)	Org.chloor (µg/g)	vegetatie en gebied
O- horizon <sup>1</sup>	68 (42-107)	309 (207-497)	mixed bos Zweden
0-5 cm <sup>1</sup>	/	212 (161-331)	naaldbomen Zweden
0-15 cm <sup>1</sup>	68 (37-126)	314 (190-492)	naaldbomen Zweden

<sup>1</sup>Öberg, 2003

Wanneer we onze bekomen waarden gaan vergelijken met de waarden uit de literatuur moeten we rekening houden met de karakteristieke kenmerken van de bemonsteringsplaats.

De bemonsteringsplaats kan in een aantal belangrijke facetten verschillen. Zo is de afstand van de bemonsteringsplaats tot de zee in Zweden slechts de helft van deze in België. Maar de dominante windrichting zorgt er wel voor dat de aangevoerde lucht (en neerslag) in Zweden eerst helemaal over land moet terwijl dat in België niet het geval is. Doordat het gebied van de bemonsteringsplaats in Zweden zeer nat is (bv. zoetwatermeren) zal de neerslag die helemaal over land is moeten komen minder chloride bevatten.

De resultaten van recent onderzoek uit Zweden kunnen vergeleken worden met de resultaten voor de neerslag van het bemonsteringsgebied in Mol (België).

Tabel 4.7 De hoeveelheid natte neerslag en de gehalten aan chloor in deze neerslag voor Zweden en België

gebied	neerslag (mm/ Yr)	chloride (kg Cl <sup>-</sup> / Ha.Yr)	organische chloor (kg Cl <sub>org</sub> / Ha.Yr)
Zweden <sup>1</sup>	697	4	0,07
België <sup>2</sup>	598	20	/

<sup>1</sup> Svensson, Sandén, Bastviken & Öberg, 2007

<sup>2</sup> interne communicatie met Thiry Y.

Zoals verwacht is het gehalte aan chloride in de natte neerslag van Zweden veel kleiner dan in België. Öberg (1998) geeft weer dat de literatuurwaarden voor de input van chloride via natte neerslag aan de hand van gedaan onderzoek in een grote range ligt van 1-100 kg Cl<sup>-</sup>/ Ha. Yr. Onze bekomen resultaten zitten hier dus tussen.

Niet alleen de input door natte neerslag zal een invloed hebben op het gehalte aan chloor in de humus, vooral de karakteristieke eigenschappen van de humus zullen het gehalte beïnvloeden.

Zo zijn er gebieden met een zeer dunne humuslaag en een heel andere bodemsamenstelling. Deze factoren zullen invloed hebben op het aanwezige gehalte aan chloor in de bodem, maar vooral de activiteit van de bodemorganismen beïnvloeden het aanwezige gehalte aan chloor.

Johansson, Sandén & Öberg (2000) tonen door studie aan dat ook de vegetatie van een gebied invloed zal hebben op het aanwezige gehalte aan chloor. Door deze studie wordt duidelijk dat het soort vegetatie (loofbomen of verschillende types naaldbomen zoals pijnbomen en sparren) op een bepaald gebied een grote invloed heeft op het gehalte aan chloor in de bodem.

#### 4.3.4 Besluit

Uit de metingen kan besloten worden dat de gemeten waarden voor chloor zich in een zeer brede range bevinden. Dit doordat niet alle bemonsteringsplaatsen in het bos dezelfde condities hebben. Verschillende factoren zoals vegetatie en micro-organismen kunnen het gehalte aan chloor beïnvloeden.

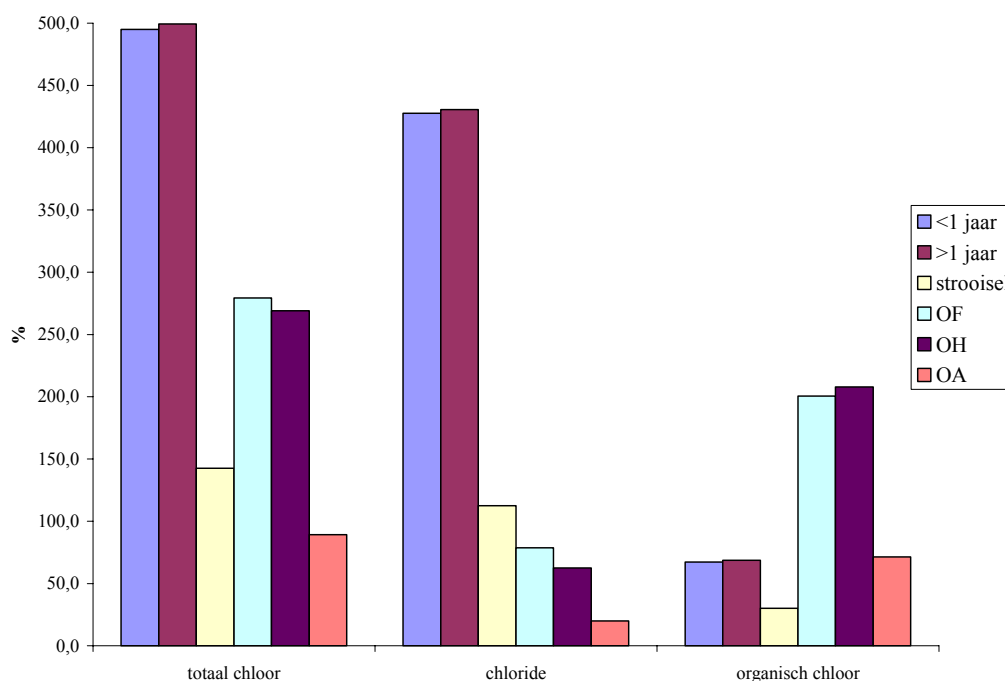
De grote heterogeniteit tussen de verschillende monsters is niet enkel bij onze metingen opmerkelijk, ook de literatuurwaarden geven dit weer.

Ook tussen de bemonsteringsplaatsen van verschillende landen kan er een zeer groot verschil zijn in de gehalten van chloor. Dit doordat de omgevingsparameters een andere invloed kunnen hebben op de cyclus van chloor.



#### 4.4 De evolutie van chloor

De hele afbraak van de naalden is doorlopen in het onderzoek. Beginnende van de verse naalden tot de humus. Het strooisel en de humus bestaan natuurlijk niet enkel uit naalden, maar deze vertegenwoordigen het grootste percentage van het totaal. Zo creëren we een benadering van de resultaten wanneer alle componenten in rekening gebracht zouden worden.



Figuur 4.11 De evolutie van de gehalten aan chloor

Figuur 4.11 geeft weer dat het gehalte aan chloride steeds daalt gedurende de verandering en de afbraak van de naalden. Er is een sterke terugval van chloride in het strooisel.

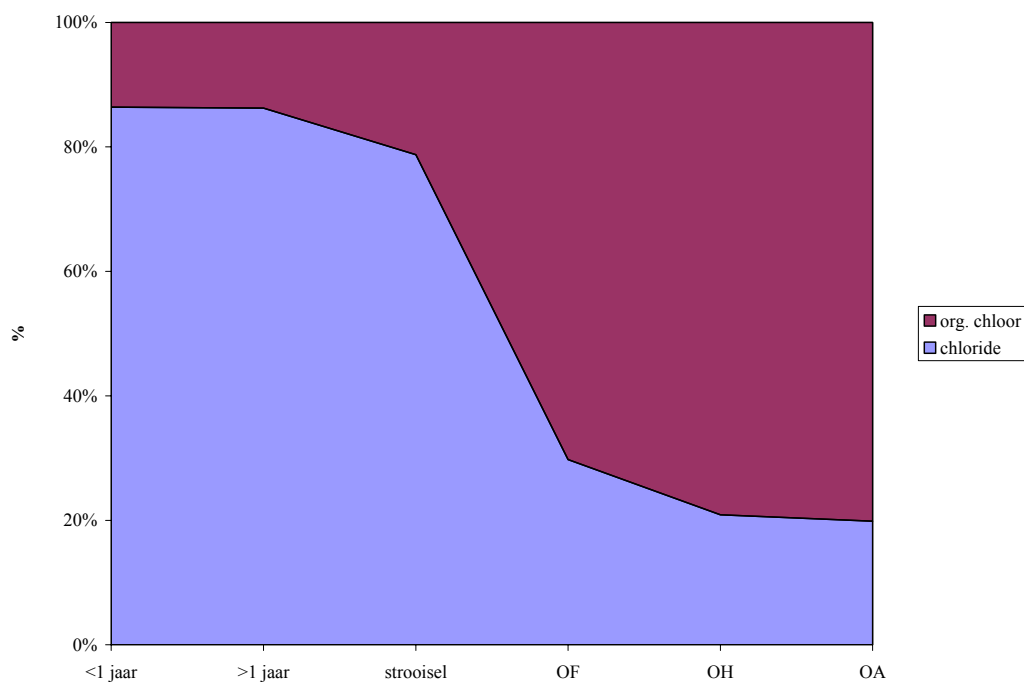
Voor het gehalte aan totaal chloor en organische chloor is er geen constante daling, maar ook hier is er weer een sterke terugval te bemerken in het strooisel.

De vermindering van chloor in het strooisel kan verklaard worden doordat de naalden geen chloride meer nodig hebben voor de inwendige processen en door uitloging van de componenten.

Bij de gehalten aan organische chloor is er een sterke stijging duidelijk in de bovenste humuslaag. Dit bewijst de aanwezigheid van bodemorganismen die chloride kunnen omzetten tot organische chloor. Een deel van deze stijging zal afkomstig zijn van de input via natte en droge afzet. (figuur 4.11) Maar Öberg (1998) veronderstelt dat de bodemorganismen de belangrijkste oorzaak zijn van deze sterke stijging.

De procentuele bijdrage van chloride en organische chloor gedurende de afbraak van de naalden wordt getoond in figuur 4.12. Dit maakt duidelijk dat er een constante daling is in de bijdrage van chloride. Naarmate men vordert in de evolutie zal er procentueel steeds meer organische chloor aanwezig zijn.

Ook hier is de sterke stijging van de bijdrage aan organische chloor in de OF- laag goed zichtbaar.



Figuur 4.12 Voorstel voor de evolutie van de procentuele bijdrage van chloride en organische chloor

Enkel Myneni (2002) geeft een gelijkaardige evolutie weer voor de procentuele aanwezigheden van de verschillende voorkomingsvormen van chloor bij zijn uitgevoerd onderzoek.

## ALGEMEEN BESLUIT

De gebruikte methode waarbij het totale chloorgehalte gemeten wordt met NAA, het chloridegehalte bepaald wordt door een IC-meting na extractie van het monster en het organische chloorgehalte berekend wordt op basis van de vorige twee metingen, geeft goede resultaten voor het strooisel en de humus. De testmeting met NAA van de organische chloor in de filterkoek kan dus weggelaten worden.

Voor de verse naalden geeft de methode minder goede resultaten. Dit komt vermoedelijk door de aanwezigheid van natuurlijke componenten in de naalden die voor interferentie zorgen bij zowel de extractie als de IC metingen. Hierdoor komt de berekende waarde van organische chloor niet overeen met de waarde van de controlemeting. De methode voor de verse naalden zal nog geoptimaliseerd moeten worden.

Uit het onderzoek naar de cyclus van chloor tijdens de afbraak van de naalden kunnen enkele conclusies getrokken worden.

- Het totale gehalte aan chloor daalt sterk wanneer de naalden afsterven en afvallen, wat verklaard kan worden door stopzetten van de inwendige processen en door uitloging van de chloor.
- Het gehalte aan organische chloor stijgt sterk bij de overgang van strooisel in de bovenste humuslaag. Deze sterke stijging zal afhankelijk zijn van de input via afzet en uitloging van de biomassa, maar ook van de activiteit van de micro-organismen in de bodem.
- Doorheen de hele afbraak van de naalden is er een continue stijging van de procentuele bijdrage aan organische chloor. Er is tijdens de veroudering en de afbraak van de naalden steeds een omzetting van chloride in organische chloor
- Het verloop van het gehalte aan organische chloor doorheen de humuslagen vertoont eenzelfde trend als de procentuele aanwezigheid van organische materie in deze lagen. Een verband tussen de 2 componenten kan dus bevestigd worden.
- Het gehalte en de procentuele bijdrage aan chloride (anorganische chloor) geeft een continue daling doorheen de afbraak van de naalden.

Onze resultaten geven enkel een kijk op de cyclus van de naalden, natuurlijk zijn er nog veel meer factoren die deze cyclus beïnvloeden. Om een bredere en meer volledige kijk op deze cyclus te krijgen zullen ook monsters van de bomen en de andere strooiselcomponenten geanalyseerd moeten worden. Maar niet enkel de invloed van de natuurlijke componenten moet verder onderzocht worden, er zijn ook nog steeds veel vragen rond de natuurlijke parameters die deze cyclus kunnen beïnvloeden.

Er is nog veel onderzoek nodig om alle factoren van de biogeochemische cyclus van chloor helemaal te kunnen begrijpen en te voorspellen. Zo is nog maar weinig geweten over:

- de graad van chlorering
- de graad van mineralisatie
- de omvang van vervluchtiging
- het effect van de seizoenen op het gehalte aan chloor
- het effect van het gehalte aan organische chloor aanwezig in de neerslag
- het effect van de kwaliteit van strooisel en humus op het gehalte organische chloor

## LITERATUURLIJST

Belgochlor (2007). *Witboek van Chloor*.

Gevonden op 15 februari 2007 op het internet: <http://www.belgochlor.be/nl/H102.htm>

Brady, C., & Weil, R. (1996). *The Nature and Properties of Soils* (Vol. 11, p. 147).

Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall.

Glascok, M. (2006). *An Overview of Neutron Activation Analysis*

Gevonden op 10 maart 2007 op het internet:

[http://web.missouri.edu/~glascockm/naa\\_over.htm](http://web.missouri.edu/~glascockm/naa_over.htm)

Janssens, A., Sampson, A., Cermak, J., Meiresonne, L., Riguzzi, F., Overloop, S., et al. (1999). Above and belowground phytomass and carbon storage in a Belgian Scots pine stand. *Annals for forest sciences*, 56, 81-90.

Johansson, E. (2000). *Organic Chlorine and Chloride in Soil*. Linköping: Linköping University.

Johansson, E., Ebenå, G., Sandén, P., Svensson, T., & Öberg, G. (2001). Organic and inorganic chlorine in Swedish spruce forest soil: influence of nitrogen. *Geoderma*, 101, 1-13.

Johansson, E., Sandén, P., & Öberg, G. (2003). Organic chlorine and chloride in deciduous and coniferous forest soil in southern Sweden. *Organic Chlorine and chloride in Soil* (bijlage 4). Linköping: Linköping University.

Mekkink, P. (2001). *De Bodemgesteldheid van Bosreservaten in Nederland (Dl 2; Bosreservaat Imboschberg)*. Wageningen: Alterra.

Myneni, B. (2002). Formation of stable chlorinated hydrocarbons in weathering plant material. *Science*, 295(5557), 1039-1041

NIRAS. *Beheer op Lange Termijn: De zorg voor een Veilige Toekomst*.

Gevonden op 20 maart 2007 op het internet:

[http://www.nirond.be/nederlands/7.5\\_Beheer\\_nl.html](http://www.nirond.be/nederlands/7.5_Beheer_nl.html)

Öberg, G., Johansen, C., & Grøen, C. (1998). Organic Halogens in spruce throughfall. *Chemosphere*, 36 (8), 1689-1701

Öberg, G. (1998). Chloride and Organic Chlorine in Soil. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 26 (3), 137-144.

Öberg, G. (2002). The natural chlorine cycle: Fitting the scattered pieces. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58, 565-581.

Öberg, G. (2003). The biogeochemistry of chlorine in soil. *The Handbook of Environmental Chemistry* (Vol.3, Part P, pp. 43-62). Heidelberg: Springer Berlin.

Öberg, G., Holm, M., Sandén, P., Svensson, T., & Parikka, M. (2005). The Role of organic-matter-bound chlorine in the chlorine cycle; a case study of the Stubbetorp catchment, Sweden. *Biogeochemistry*, 75, 241-269.

Pauwels, J. (2001). *Bodemkunde*. Katholieke Hogeschool Kempen, Departement Industrieel Ingenieur en Biotechniek, Geel.

Rochester Institute of technology. *Chromatography*.

Gevonden op 12 maart 2007 op het internet:

<http://www.rit.edu/~pac8612/webionex/website/html/ione8ho9.html>

Science Education Resource Center (2007). *Ion Chromatography*.

Gevonden op 12 maart 2007 op het internet:

[http://serc.carleton.edu/microbelife/research\\_methods/biogeochemical/ic.html](http://serc.carleton.edu/microbelife/research_methods/biogeochemical/ic.html)

Sheppard, S., Johnson, L., Goodwin, B., Tait, J., Wuschke, D., & Davison, C. (1996). Chlorine-36 in nuclear waste disposal: 1. assessment results for used fuel with comparison to  $^{129}\text{I}$  and  $^{14}\text{C}$ . *Waste Management*, 16 (7), 607-614.

Svensson, T. (2006). *Chlorine Transport in a Small Catchment*. Linköping: Linköping University.

Svensson, T., Sandén, P., Bastviken, D., & Öberg, G. (2007). Chlorine transport in a small catchment in southeast Sweden during two Years. *Biogeochemistry*, 82, 181-199

Vermaercke, P. (2005), *Neutron Activation Analyses: A non destructive technique at the BR1 reactor*, Mol: SCK•CEN.

Vincke, C. (2006). *Technical Report of the post-doc programme "Contribution to long term biosphere impact modelling in a geological disposal scenario through measurement of soil-tree-atmosphere water transfer and related ecophysiological parameters*, Studiecentrum voor Kernenergie, Departement Radioecologie.

White, P., & Broadley, M. (2001). Chloride in Soils and its Uptake and Movement within the Plant; A Review. *Annals of Botany*, 88, 967-988.

## BIJLAGEN

*Bijlage 1 IC-metingen voor het chloridegehalte in humus op verdund en onverdund extract*

monster	onverdund Cl <sup>-</sup> (µg/g)	2* verdund met extractievloeistof Cl <sup>-</sup> (µg/g)	2* verdund met mQ- water Cl <sup>-</sup> (µg/g)
a	63,6	65,7	63,4
b	59,2	61,2	59,9
c	59,6	61,5	60,2
gemiddelde	60,8	62,8	61,1
mediaan	59,6	61,5	60,2
st.dev.	2,4	2,5	1,9

*Bijlage 2 Meting van het gehalte aan chloor in de filter*

		totaal chloor (µg/g)	
monster		originele filter	geëxtraheerde filter
filter	1	30,6 ± 1,9	28,0 ± 2,0
	2	27,2 ± 1,9	33,8 ± 2,2
	3	29,5 ± 2,1	34,4 ± 2,3
	gemiddelde	29,1 ± 2,0	32,1 ± 2,2

De metingen van het totaal gehalte aan chloor in de filters geven een hogere waarde voor de geëxtraheerde filter dan voor de niet behandelde filter. Dit door de fout die op elke meting zit. Er zal dus geen chloor vrijkomen van de filter.

*Bijlage 3 Metingen van het chloorgehalte in humus met en zonder actieve kool*

methode		NAA	IC	berekend
monster		totaal chloor (µg/g)	chloride (µg/g)	organisch chloor (µg/g)
met actieve kool	a	232	63,4	168,6
	b	232	59,9	172,1
	c	232	60,2	171,8
	gemiddelde ± st.dev.		61,1 ± 1,9	
zonder actieve kool	a	232	61,6	170,4
	b	232	60,7	171,3
	c	232	63,5	168,5
	gemiddelde ± st.dev.		61,9 ± 1,4	

Wanneer we de gemiddelde waarden voor chloride met of zonder actieve kool vergelijken zien we dat er geen verschil is tussen beide wanneer we de standaarddeviatie in acht nemen.