

KJELDAHL STIKSTOF

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure vervangt de procedure AAC/2/I/B.5 van mei 1996.

De Kjeldahl destructiemethode laat toe de organisch gebonden stikstof te bepalen afkomstig van verontreinigingen aanwezig in het (afval)water, vooropgesteld dat zij onder de gekozen werkomstandigheden geoxideerd kunnen worden tot ammoniumionen.

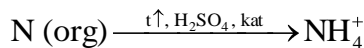
In de beschreven methode wordt stikstof, vervat in nitraat en nitriet, niet aangetast en dus ook niet meebepaald. De vrije ammoniumionen worden wel meebepaald daar zij niet vooraf worden verwijderd.

De beschreven methode is bruikbaar voor de bepaling van 0.5 mg/l tot 1000 mg/l stikstof (monstervolume 50 ml).

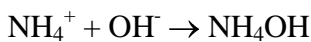
De ammoniumbepaling in het destillaat kan spectrofotometrisch of titrimetrisch gebeuren. In deze procedure wordt enkel de manuele spectrofotometrische bepaling volgens Nessler beschreven.

2 PRINCIPE

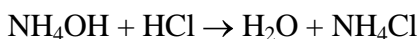
De organisch gebonden stikstof wordt in een warm zwavelzuur-milieu, in aanwezigheid van katalysatoren, gedeutereerd en omgezet in ammoniumzouten.



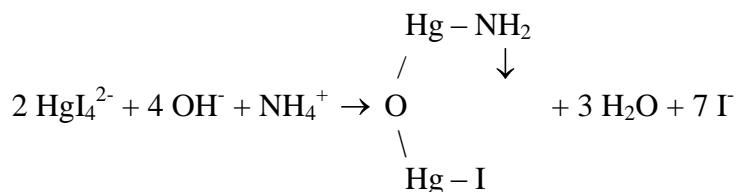
Na toevoegen van een overmaat natriumhydroxide omgezet in ammoniak.



Door stoomdestillatie wordt de gevormde ammoniak uit het alkalisch medium afgezonderd en in een verdunde zoutzuur oplossing geabsorbeerd en omgezet naar ammoniumchloride.



Aan deze oplossing voegt men het Nessler-reagens toe. Het Nessler reagens $\text{K}_2(\text{HgI}_4)$ vormt met de aanwezige ammoniumionen, in aanwezigheid van een overmaat natriumhydroxide, een oranje-rood gekleurd jodide complex.



De kleurintensiteit van de oplossing, gemeten bij een golflengte tussen 400 en 420 nm, is evenredig met het gehalte aan ammoniumionen aanwezig in het geanalyseerde watermonster.

3 BELANGRIJKE OPMERKINGEN

- De oxidatie van stikstof hangt in grote mate af van de verbinding waarin stikstof voorkomt in het monster. Amines, amides en eiwitten worden nagenoeg kwantitatief geoxideerd. Stikstof aanwezig in meer complexe verbindingen wordt onvolledig geoxideerd (azo, nitro-verbindingen, pyridine en zijn derivaten, e.a.).
- Het toevoegen van het seleenmengsel volgens WIENINGER zorgt voor de aanwezigheid van de nodige katalysatoren en oxidantia. Zo zorgt de aanwezigheid van het kaliumsulfaat voor de verhoging van het kookpunt van het zwavelzuur (betere oxidatie). Te hoge zoutconcentraties worden best vermeden, daar de oxidatie van het ammonium dan niet uit te sluiten is. Seleen en koper zorgen, door hun katalytische werking, voor een betere oxidatie van de verschillende substanties. Tijdens de destructie wordt waterstofperoxide toegevoegd, dit zorgt voor een betere oxidatie van sommige stikstofverbindingen.
- Er bestaan meerdere katalysatoren voor kjeldahl stikstof op basis van kwik, seleen, koper, titaan, e.a. De katalysator op basis van seleen is een van de courant gebruikte katalysatoren voor kjeldahl stikstof.
- Het destillatietoestel moet vóór gebruik grondig gereinigd worden, door een hoeveelheid MQ-water over te destilleren. Deze handeling wordt ook herhaald na destillatie van een ammoniumhoudend monster.
- Bij de spectrofotometrische bepaling dienen monster- en ijkoplossingen dezelfde temperatuur te hebben.
- In deze procedure wordt zoutzuur gebruikt als receptorvloeistof voor de gedestilleerde ammonium. Indien ammonium titrimetrisch wordt bepaald, wordt doorgaans een boorzuoroplossing gebruikt als receptorvloeistof.

4 MONSTERBEHANDELING

De watermonsters dienen zo snel mogelijk na monsternamen geanalyseerd te worden.

Is dit niet mogelijk, remt men de biologische activiteit, door het monster te stockeren bij lage temperatuur (0 – 4°C), in het donker en door toevoeging van zwavelzuur tot een pH van 2 à 2,5. Meestal volstaat het toevoegen van 0,8 ml geconcentreerd zwavelzuur per liter. Monsters op deze wijze behandeld kunnen 28 dagen bewaard worden.

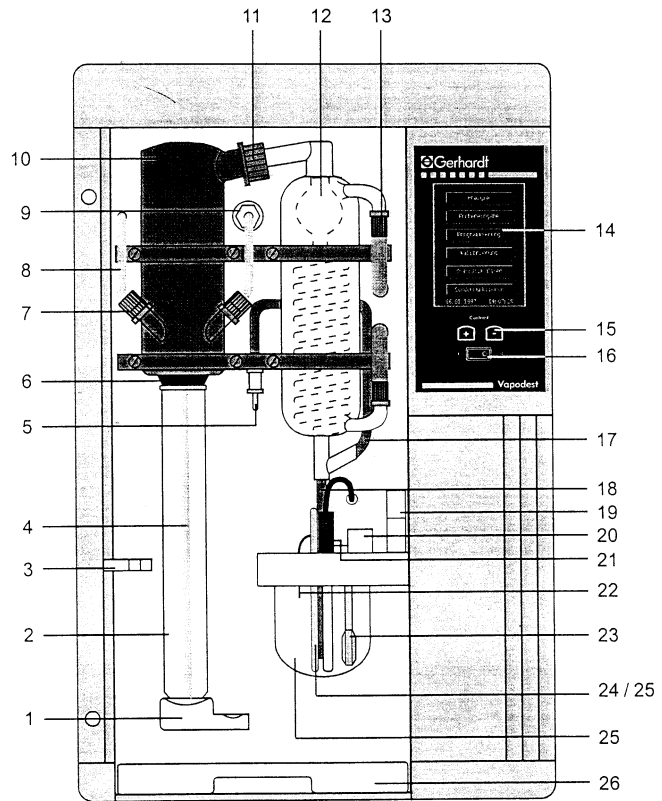
5 APPARATUUR EN MATERIAAL

- stoomdestillatietoestel (zie figuur 1)
- destructieapparaat met destructiebuizen (zie figuur 2)
- spectrofotometer : geschikt voor het uitvoeren van metingen bij een golflengte van 400 - 420 nm.
- regelbare verwarmblok (voorzien voor het plaatsen van de destructiebuizen)
- pipetten
- maatkolven
- kooksteentjes
- gegradueerde bekertjes (voor het opvangen van het destillaat); 100 ml

Het destillatie-apparaat:

Voornaamste onderdelen:

1. Klem voor vastzetten van destructiebuis
2. Destructiebuis
4. Teflon buis: voor aanzuigen van monster, toevoegen van reagentia en stoom
5. Ventilatieklep
6. Dichting
8. Aanvoerbuis voor NaOH
12. Condenser
14. Display met touch sensitive screen voor sturing
15. Toetsen
16. Aan/uit schakelaar
18. Destillaat uitstroomslang



Figuur 1: destillatie-apparaat

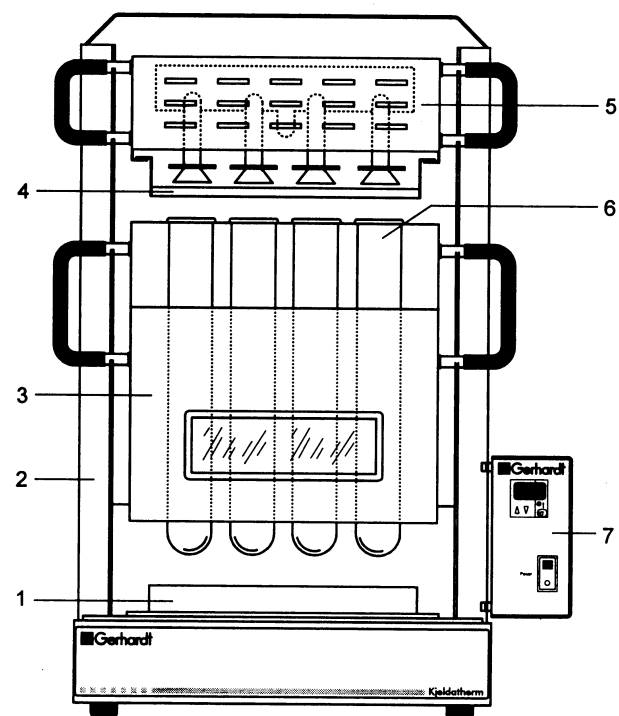
Het destructietoestel:

Het toestel bestaat uit volgende onderdelen (zie figuur):

1. Verwarmingsblok
2. Kader met vaste posities voor buizenhouder en afzuigenheid
3. Houder voor 8 destructiebuizen
4. Druppelvanger die onder de afzuigkapjes komt
5. Houder met afzuigkapjes aangesloten op afzuiging d.m.v. een waterstraalpomp
6. Destructiebuis
7. Stuureenheid

Voor de afzuigenheid (5) en de buizenhouder (3) zijn er in de kader vaste posities voorzien waarin deze kunnen worden opgehangen. De houders zijn voorzien van handvaten.

Figuur 2: destructietoestel



6 REAGENTIA

Alle reagentia worden aangemaakt met MilliQ 185 (MQ) water.

- Geconcentreerd zwavelzuur; H_2SO_4 (d= 1,84 g/ml)
- H_2O_2 ; 31%, ultrapur
- NaOH-oplossing 32%, p.a.
- Zoutzuur, HCl 0,1 M
Brenge ongeveer 8,3 ml geconcentreerd (d= 1,19 g/ml) zoutzuur, in een weinig water.
Leng aan tot 1000 ml en homogeniseer.
- Kjeltabs volgens Wieninger bestaande uit:
100 delen Kaliumsulfaat: K_2SO_4
6 delen Kopersulfaat: $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
1 deel Seleen: Se
(Kjeltabs IB61, Thompson & Capper ltd)
- Ammonium stockoplossing: 1000 mg N/l
Los 3,819 g ammoniumchloride, voorafgaandelijk gedroogd bij 105 °C, op in water.
Voeg hieraan 5 ml chloroform ($CHCl_3$) toe. Leng deze oplossing aan tot 1000 ml en homogeniseer zorgvuldig. Koel bewaard is deze standaard 6 maanden houdbaar.
- Glycine stockoplossing: 1000 mg N/l
Weeg 0,5358 g glycine af. Brenge kwantitatief over in een maatkolf van 100 ml en los op in MQ-water. Leng aan en homogeniseer. Koel bewaard is deze oplossing 6 maanden houdbaar.
- Glycine controle-oplossing
Pipeteer 500 µl van de glycine stockoplossing in een destructiebuis en leng aan met water tot 50 ml. Deze oplossing bevat 10 mg N/l, dagelijks vers te bereiden.
- Nessler-reagens
Los 100 g kwik (II) jodide (HgI_2) en 70 g kaliumjodide (KI) volledig op in ongeveer 100 ml MQ-water. Brenge deze oplossing voorzichtig en al schuddend bij een afgekoelde oplossing van 160 g natriumhydroxide (NaOH) in 500 ml water. Leng aan tot 1000 ml en homogeniseer.
Deze oplossing wordt bewaard in een bruine fles, beschermt tegen het licht.

7 ANALYSEPROCEDURE

7.1 Destructie

- Brenge een hoeveelheid monster (maximaal 50 ml) over in een destructiebuis overeenkomstig met maximaal 10 mg N. Leng alle monsters aan tot hetzelfde volume met MQ water zodat de verdamping en destructie voor alle monsters evenveel tijd in beslag neemt.
- Voeg vervolgens 1 kjeltab van 5 g, 10 ml geconcentreerd zwavelzuur en enkele kooksteentjes toe. Plaats de destructiebuizen in het verwarmingsblok.
- Samen met de monsters worden blanco en de controlestandaard gedestruëerd. De calibratiestandaarden worden niet gedestruëerd.

- De gebruikte Kjeldahldestructie staat weergegeven in de tabel. Deze is van toepassing op een initieel monstervolume van 50 ml. Indien meer of minder monster wordt genomen dient de tijd van de eerste stap aangepast te worden.

Stap	Temp (°C)	Duur (uur)	Beschrijving
1	250	1	Verdampen van water
2	340	1	Verwarmen van het zuurmengsel tot kookpunt Destrueren gedurende 1 uur
3			Buizen afkoelen gedurende 15 minuten Toevoegen van 7 ml H ₂ O ₂ (zie tekst)
4	340	1	Vervolg destructie

- Na de tweede stap wordt de houder uit het verwarmingsblok getild zodat de buizen gedurende 15 minuten kunnen afkoelen. Vervolgens wordt er in iedere buis 7 ml H₂O₂ voorzichtig toegevoegd. Wacht tot het hevig bruisen stopt en plaats de buizen dan onmiddellijk terug in het verwarmingsblok. Er wordt nog 1 uur verder gedestruerd bij 340 °C.
- Laat afkoelen en voeg met een maatcilinder 35 ml MQ-water toe.

7.2 Destillatie

- Bevestig de destructiebuis aan het destillatie-apparaat.
- Plaats een gegradueerde beker gevuld met 30 ml 0,1 M zoutzuur aan de opvangzijde van de destillatie eenheid. Zorg ervoor dat de opening onder het vloeistofniveau zit.
- Start de Kjeldahldestillatie (hiertoe wordt eerst een overmaat NaOH toegevoegd totdat het mengsel in de destillatiebuis basisch is, vervolgens wordt er 60 ml monster overgedestilleerd)
- Leng het destillaat aan tot een exact volume van 100 ml.
- Tussen 2 destillaties wordt gedurende 5 minuten zuiver water gedestilleerd om contaminatie te verhinderen.

7.3 Spectrometrische bepaling

Standaarden

Voor de spectrometrische bepaling worden ammoniumstandaarden aangemaakt in het concentratiegebied van 0,25 tot 10 mg N/l. Dat komt na omrekening overeen met een minimale Kjeldahlstikstof van 0,5 mg N/l als men 50 ml monster in bewerking heeft genomen.

Bereid vertrekkende van de ammonium stockoplossing van 1000 mg N/l de standaarden op analoge wijze als aangegeven in de tabel. Er moet voor worden gezorgd dat de standaarden dezelfde zoutzuurconcentratie bevatten als de monsteroplossingen na destillatie.

<i>Ammonium conc. (mg N/l)</i>	<i>Volume (μl) stock 1000 mg N/l</i>	<i>Volume (ml) HCl; 0,1 M</i>	<i>Eindvolume (ml)</i>
0,25	12,5	15	50
0,5	25		
1	50		
2	100		
4	200		
6	300		
8	400		
10	500		

Spectrometrische bepaling

- Aan 50 ml standaard of destillaat wordt 1 ml Nesslerreagens toegevoegd.
- Laat de kleur 10 min ontwikkelen.
- Meet de absorptantie bij 410 nm met een spectrofotometer.
- Eerst worden de standaarden gemeten, ze worden uitgezet in een tweede orde calibratiecurve.
- Daarna worden de destructieblanco, gevolgd door de glycine controle-oplossing en de monsters gemeten. Indien de concentratie van een monster te hoog is, kan uit de resterende 50 ml destillaat een verdunning worden bereid. Hierbij dient de zoutzuurconcentratie aangepast te worden zodat deze identiek blijft.

8 CONTROLE ANALYSEN EN EVALUATIE VAN DE METING

- Op regelmatige tijdstippen wordt er een blancobepaling uitgevoerd.
- Om een controle te hebben op het destructierendement wordt er een controle-oplossing bepaald. Deze wordt bijgehouden in een controlekaart.
- De concentratie aan Kjeldahl-N mag niet hoger zijn dan 200 mg N/l indien 50 ml in bewerking is genomen. Is dat wel zo, dan dient de destructie herhaald te worden met een kleiner volume.
- De blanco moet onder controle worden gehouden. Daartoe wordt op basis van een aantal onafhankelijke metingen grenzen opgesteld waarbinnen de blancowaarde dient te blijven.
- De correlatiecoëfficiënt (CD) is minstens 0,999.

9 BEREKENINGEN

De gevonden ammoniumconcentratie in het destillaat moet na blancocorrectie worden teruggerekend naar het oorspronkelijk monstervolume dat in bewerking werd genomen bij de destructie. Het resultaat moet worden uitgedrukt in mg N/l.

10 VEILIGHEID

Zoutzuur; HCl

R: 34-37

S: 2-26

- bijtend op ogen, huid en ademhalingsorganen

- enkel te gebruiken in zuurkast
- verwijderd houden van sterke oxidatiemiddelen (chloorgas !)

Ammoniumchloride; NH₄Cl

- reageert met sterke zuren onder vorming van zoutzuurgas en met sterke basen onder vorming van ammoniak.
- de stof kan allergische reacties veroorzaken

Zwavelzuur; H₂SO₄

R: 35

S: 2-26-30

- enkel gebruiken in de zuurkast
- bijtend op de ogen, de huid en de ademhalingsorganen
- inademing van damp en/of nevel kan ademnood veroorzaken
- niet met de mond pipetteren
- NOOIT water in zuur gieten, bij verdunnen ALTIJD zuur in water gieten

Natriumhydroxide; NaOH

R: 35

S: 2-26-37/39

- enkel gebruiken in de zuurkast
- bijtend op de ogen, de huid en de ademhalingsorganen
- niet met de mond pipetteren
- oplossen van NaOH in water is een exotherme reactie, goed koelen van recipiënten is aan te raden

Seleenmengsel volgens WIENINGER

R: 23/25-33

S: 20/21-28-44

- zeer giftig

Nessler-reagenskwik(II)jodide, Hg(II)I₂

R: 26/27/28-33

S: 1/2-13-28-45

- giftig

Kaliumjodide; KI

- de stof ontleedt langzaam aan de lucht en in het licht onder vorming van jood
- een waterige oplossing is zeer corrosief

Waterstofperoxide; H₂O₂

R: 34

S: 3-26-36/37/39-45

- veroorzaakt brandwonden

11 REFERENTIES

- Standard Methods for the examination of water and waste water, 17th edition, 1989
- EN 25663 Waterkwaliteit - Bepaling van Kjeldahlstikstof - methode na mineralisatie met selenium (ISO 5663)
- Chemiekaarten, Gegevens voor veilig werken met chemicaliën, vijfde editie, 1990