

SPECTROFOTOMETRISCHE BEPALING VAN AMMONIUM STIKSTOF MET EEN DOORSTROOMANALYSESISTEEM

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure vervangt de procedure CMA/2/I/B.4.2. van november 2001.

Deze methode beschrijft de bepaling van ammonium met een doorstroomanalysestelsel in water en waterige extracten. Ze is toepasbaar voor concentraties van 0,1 tot 10 mg N/l. Hogere concentraties kunnen worden bepaald door verdunnen van het monster. Dit concentratiebereik maakt deze methode toepasbaar voor analyse van grond-, drink- en afvalwater. Naast de flowinjectieanalyse (FIA) met spectrometrische detectie bestaat er ook een continu-stroomanalyse (CFA) met spectrometrische detectie. Deze laatste methode wordt verder beschreven.

2 PRINCIPE

De spectrofotometrische bepaling van ammonium in waterige monsters is gebaseerd op de gewijzigde Berthelot kleurreactie. Ammonium reageert met hypochloriet, dat in situ wordt gevormd door alkalische hydrolyse van natriumdichloorisocyanuraat. Hierbij wordt chlooramine gevormd dat vervolgens met salicylaat reageert in aanwezigheid van natriumnitroprusside dat dienst doet als katalysator. Hierbij ontstaat een groen gekleurd complex waarvan de intensiteit gemeten wordt bij 640 tot 660 nm bij 37-50°C. Natriumcitraat wordt gebruikt om mogelijke storende kationen te maskeren. Er wordt gewerkt in gebufferd milieu omdat de kleurintensiteit pH afhankelijk is. Na buffering ondergaat het monster een dialyse waar vaste deeltjes en sommige gekleurde componenten geëlimineerd worden zodat ze niet kunnen storen bij de fotometrische bepaling. Vervolgens worden de reagentia toegevoegd. De intensiteit van de kleur wordt gemeten bij 640 tot 660 nm in een doorstroomcel. De intensiteit in deze cel wordt continu gemeten in functie van de tijd.

Bij een doorstroomstelsel worden de benodigde reagentia continu aan de vloeistofstroom toegevoegd. Bij een segment-doorstroomstelsel (SFA) wordt de vloeistofstroom op regelmatige tijdstippen onderbroken door een luchtbel zodat gescheiden segmenten ontstaan die alle even groot zijn.

3 STORINGEN

Indien in de opstelling een dialysemembraan is opgenomen worden de meeste storende componenten tegengehouden. Toch kunnen gekleurde componenten in het monster die niet tegengehouden worden bij de dialyse storen in de fotometer.

Indien in de opstelling geen dialyse is voorzien, dan worden de monsters voor analyse best gefiltreerd.

De kleurintensiteit is afhankelijk van de pH. Om dit effect op te vangen wordt er gewerkt in gebufferd milieu. Sterk gebufferde monsters of monsters met een sterk afwijkende pH (zoals gedestruëerde monsters) kunnen echter problemen geven (zie punt Opmerkingen). De pH van de gebruikte buffer is 5,2.

Bepaalde stikstofverbindingen worden tijdens de analyse zelf gedeeltelijk omgezet in ammonium en geven aanleiding tot een overschatting van de ammoniumconcentratie. Zo zullen aminozuren in zekere mate worden omgezet.

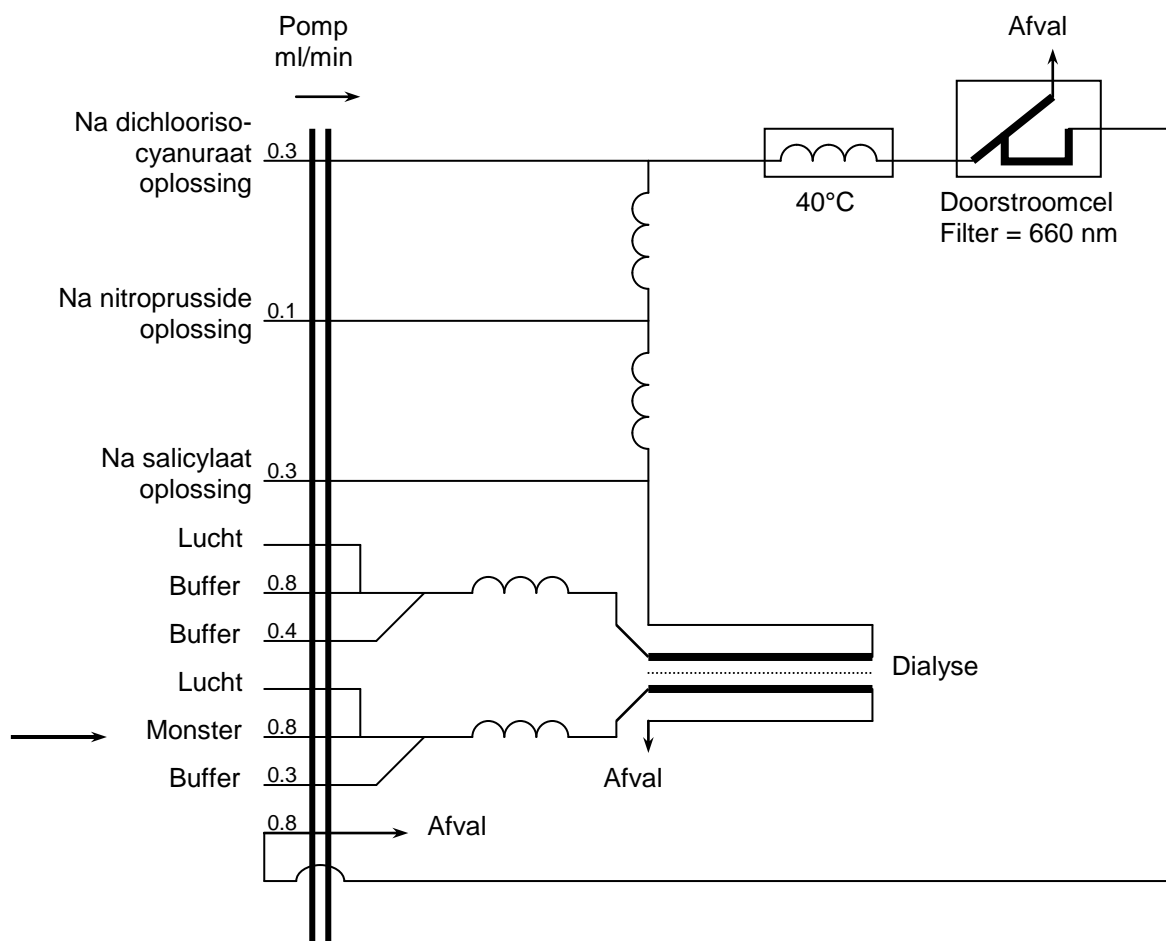
4 MONSTERBEWARING

Aangezien tijdens bewaring stikstofcomponenten omgezet kunnen worden dient de analyse zo snel mogelijk en bij voorkeur binnen 24 uur na de bemonstering gebeuren. Eventueel kan het monster bewaard worden tot 28 dagen bij -20°C zonder aanzuren of bij 4°C na aanzuren tot $\text{pH} < 2$. Deze maatregelen zijn er vooral op gericht de biologische activiteit te minimaliseren. Er dient op gewezen te worden dat aanzuren aanleiding kan geven tot interferenties in het bijzonder bij niet gefiltreerde uitlogingen van bodem waarin uitwisselbare ammonium aanwezig is. Aangezuurde monsters worden voor analyse geneutraliseerd.

5 APPARATUUR EN MATERIAAL

Een doorstroomanalyzesysteem met:

- een module voor de bepaling van ammonium opgebouwd volgens
- **Figuur 1** een module voor de bepaling van ammonium opgebouwd volgens Figuur 1 of
- **gelijkaardig of gelijkaardig**
- een autosampler
- fotometer
- computer met sturing- en verwerkingssoftware



Figuur 1: schematisch overzicht van het doorstroomanalyzesysteem voor de bepaling van ammonium in water

6 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

Alle oplossingen worden bereid met ultra puur water: (elektrische geleidbaarheid kleiner dan 0,1 mS m⁻¹, equivalent met een weerstand groter dan 0,01 MΩ m bij 25°C). Het wordt aangeraden water te gebruiken van een water zuiveringssysteem dat ultra puur water levert met een weerstand groter dan 0,18 MΩ m (doorgaans door leveranciers uitgedrukt als 18 MΩ cm).

- 6.1 bufferoplossing:
- los 33 g kaliumnatriumtartraat (C₄H₄O₆KNa·4H₂O) op in 800 ml water. Voeg 24 g natriumcitraat (C₆H₅O₇·2H₂O) toe en los op. Voeg verder water toe, controleer de pH en pas zonodig aan met HCl tot 5,2. Leng aan tot 1 l en voeg 3 ml surfactant (bv. Brij 35) toe.
- 6.2 natriumsalicylaatoplossing:
- los 12.5 g natriumhydroxide (NaOH) op in 50 ml water. Leng aan tot ± 350 ml met water. Los hierin 40 g natriumsalicylaat (C₇H₅NaO₃) op. Leng aan tot 500 ml en meng. Deze oplossing is 1 week houdbaar.
- 6.3 natriumnitroprusside:
- los 0.25 g natriumnitroprusside (Na₂[Fe(CN)₅NO]·2H₂O) op in ± 200 ml water. Leng aan tot 250 ml water. Deze oplossing is 1 week houdbaar in een donkere fles.
- 6.4 natriumdichloorisocyanuraat:
- los 0.5 g natriumdichloorisocyanuraat (C₃N₃O₃Cl₂Na·2H₂O) op in ±200 ml water. Leng aan tot 250 ml. Deze oplossing is 1 week houdbaar maar kan best frequenter vervangen worden.
- 6.5 stockoplossing ammonium 1 g N/l:
- droog ammoniumchloride (NH₄Cl) bij 100°C tot constant gewicht. Los 0.3819 g gedroogd ammoniumchloride op en leng aan tot 100 ml. Koel bewaard kan deze stockoplossing meerdere maanden gebruikt worden.
- 6.6 standaardoplossing ammonium 10 mg N/l:
- 1 ml stockoplossing 1g N/l aanlengen naar 100 ml. Deze standaard is koel bewaard minstens een week houdbaar.
- 6.7 werkstandaarden:
- het gebruikelijke werkgebied is 0,05 tot 0,5 mg N/l. Voor lage concentraties (zoals voor grondwater) kan gewerkt worden in het gebied van 0.02 tot 0.1 mg N/l. Bereid de standaarden op analoge wijze als aangegeven in de tabel. Deze oplossingen worden vers bereid.

Standaard (mg N/l)	Volume (ml) 10 mg N/l aan te lengen tot 100 ml
0.02	0.2
0.04	0.4
0.06	0.6
0.08	0.8
0.05	0.5
0.1	1
0.2	2
0.3	3
0.4	4
0.5	5

- 6.8 controlestandaard:
- Uitgaande van een onafhankelijke commerciële standaardoplossing (ammonium standaard oplossing 1000 mg NH₄/l) wordt er door een gepaste verdunning een controlestandaard aangemaakt in het werkgebied. Uitgaande van deze oplossing van 1000 mg N/l: leng 1 ml aan tot 50 ml. Van deze laatste oplossing wordt opnieuw 1 ml aangelengd tot 50 ml. De concentratie van de uiteindelijke oplossing is 0.4 mg N/l. Deze oplossing wordt dagelijks vers bereid.

Gezien de beperkte houdbaarheid van een aantal reagentia, kunnen deze best aangemaakt worden in aangepaste hoeveelheden.

De ruime houdbaarheidstermijnen voor de stockoplossingen zijn alleen gerechtvaardigd wanneer er kalibratiecontrole uitgevoerd wordt.

7 ANALYSEPROCEDURE

7.1 Voorbehandeling van de monsters

Indien het doorstroomanalyzesysteem niet beschikt over een dialysemembraan, moeten monsters met vaste deeltjes en monsters met gekleurde componenten gefiltreerd worden. Hierbij moet erover worden gewaakt dat geen verliezen of contaminatie optreden. Verwerp het eerste deel van het filtraat en vang de rest op in een droog recipiënt.

Verdun de monsters zodat ze in het werkgebied vallen. Indien de concentratie niet gekend is, kan onverdund worden gemeten. Indien het toestel over een verdunner beschikt, worden de verdunningen automatisch aangemaakt en hermeten als de waarde te hoog is. Gezien het lage en nauwe werkgebied is het echter dikwijls beter toch te verdunnen vóór de analyse om geheugeneffecten te vermijden.

De kleurintensiteit is afhankelijk van de pH. Monsters met erg hoge of lage pH moeten voor analyse geneutraliseerd worden. Aangezien het monster gebufferd wordt is een zekere spreiding op de pH toelaatbaar.

7.2 Opstarten van het toestel

Het opstarten gebeurt volgens voorschrift van de fabrikant.

Laat het systeem spoelen met reagentia tot de basislijn stabiel is. Indien de basislijn gedurende lange tijd blijft dalen of stijgen, kan best gereinigd worden (zie 7.4). Indien het systeem dan nog niet stabiliseert, bestaat de kans dat een van de reagentia niet meer voldoet.

Pas de hoogte van de basislijn aan zodat de achtergrond intensiteit minder dan 5% van de maximale intensiteit bedraagt.

Controleer het systeem op onregelmatigheden in de doorstroming. De vloeistofstroom moet met een constante snelheid lopen en de afstand tussen de luchtballen moet vrij constant zijn. Indien hieraan niet voldaan is, kan best gereinigd worden (zie 7.4). Als geen of te weinig vloeimiddel is toegevoegd verkrijgt men meestal geen regelmatige doorstroming.

7.3 Starten van de meting

Als de basislijn stabiel is, kan met de meting gestart worden. De basislijn kan als stabiel worden beschouwd als er geen stijgende of dalende trend en geen onregelmatigheden merkbaar zijn.

De eerste oplossing die gemeten wordt is de zogenaamde tracer. Hiervoor wordt doorgaans de hoogste standaard genomen. Indien nodig wordt de gain van de recorder ingesteld zodat de piekhoogte van de tracer ongeveer 90% van het maximum bedraagt. Dit geeft nog voldoende speling voor signaaldrift.

Op regelmatige tijdstippen wordt er een drift gemeten. Dit is een standaardoplossing die het mogelijk maakt om te corrigeren voor signaaldrift. Samen met de drift wordt er een wash gemeten. Die wordt gebruikt voor basislijndrift. Het programma geeft de mogelijkheid om automatisch een drift en wash te meten na een bepaald aantal monsters (doorgaans 10). Als drift wordt een standaard genomen met vrij hoge concentratie. De wash-oplossing is ultra puur water.

Indien mogelijk wordt de driftcorrectie opgevolgd in functie van de tijd. Zij wordt bij voorkeur niet groter dan 10%.

Eerst worden de kalibratie- en controlestandaarden gemeten, dan de monsters. Er kan meerdere uren gemeten worden met dezelfde kalibratie op voorwaarde dat driftcorrectie wordt toegepast en

regelmatig een controlestandaard gemeten wordt. De analyse wordt bij voorkeur ook beëindigd met een meting van de controlestandaard. In ieder geval wordt er iedere meetdag opnieuw gekalibreerd.

7.4 Reinigingsprocedure

Teneinde contaminatie te vermijden, is het aan te raden het systeem wekelijks gedurende een half uur te spoelen met 1% hypochlorietoplossing. Daarna moet het systeem grondig gespoeld worden met water.

Deze procedure is ook aangewezen in geval van problemen met basislijnstabilisatie of indien het toestel gedurende langere tijd niet meer werd gebruikt.

8 CONTROLEANALYSEN

Er wordt een controlestandaard bereid in het gebruikte concentratiegebied en meegemeten. Deze meetgegevens worden in een Shewhart controlekaart bijgehouden. Indien het controlemonster meerdere keren wordt gemeten tijdens 1 analyse (wat wenselijk is) wordt alleen de eerste waarde opgenomen in de controlekaart.

Het verdient aanbeveling deze controlemonsters op regelmatige tijdstippen tijdens de analyse opnieuw te analyseren.

De afwijking die toegelaten wordt op het resultaat van de controlestandaard wordt afgelezen uit de controlekaart.

Het verdient aanbeveling om regelmatig een monster te spiken met standaardoplossing en de terugvinding te bepalen. Dit is zeker het geval voor monstertypes die niet bij de validatie zijn betrokken. Niet-kwantitatieve terugvinding kan wijzen op matrixeffekten. In dat geval kan best verdund worden. Het verdunde monster wordt dan ook gespiket.

9 BEREKENINGEN

Er wordt gecorrigeerd voor signaal- en basislijndrift. Na deze correctie wordt een kalibratierechte berekend met lineaire regressie. Met de bekomen functie kunnen de concentraties van de onbekenden berekend worden. Indien de monsters verdund werden, moet de bekomen concentratie vermenigvuldigd worden met de verdunningsfactor.

10 OPMERKINGEN

Het gebruikte werkgebied kan gewijzigd worden door het aanpassen van de opstelling. Dit houdt een wijziging van de vloeistofdebieten voor de reagentia en wijzigingen in de opstelling (mengspiralen, e.d.) in. Bij deze opstelling werd gekozen voor het laagst beschikbare werkgebied.

Het werkgebied opgegeven gaat van 0.01 tot 0.5 mg N/l. Het verdient echter aanbeveling om het werkgebied te splitsen in 2 gebieden nl van 0.02 tot 0.1 mg N/l en van 0.05 tot 0.5 mg N/l afhankelijk van de gewenste ondergrens en precisie.

11 VALIDATIEGEGEVENS

Werkgebied	0.02 tot 0.1 mg N/l 0.05 tot 0.5 mg N/l
------------	--

Detectielimiet Funk (o.b.v. de onzekerheid van de kalibratie) IUPAC, 3s (10 metingen van 5 µg N/l)		7 µg N/l 2 µg N/l
Precisie Herhaalbaarheid Controlekaart 2s	< 1% (voor diverse types monsters) 0.311 ± 0.010 mg N/l	
Juistheid	Vergelijking met standaardmethode geeft een goede overeenkomst Kwantitatieve terugvinding van toegevoegde spike	

12 REFERENTIES

- ISO 11732:1997 Water quality - - Determination of ammonium nitrogen by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1992
- NEN 6646, Water - Fotometrische bepaling van het gehalte aan ammoniumstikstof en van de som van de gehalten aan ammoniumstikstof en aan organisch gebonden stikstof volgens Kjeldahl met behulp van een doorstroomanalysestelsel, 1990, Nederlands Normalisatie Instituut