



***Bepaling van het gehalte aan
nitrietstikstof en nitraatstikstof en de som van beide
met behulp van doorstroomanalyse***



INHOUD

1	TOEPASSINGSGEBIED	3
2	PRINCIPE	3
3	OPMERKINGEN	3
4	APPARATUUR EN MATERIAAL	3
4.1	APPARATUUR.....	3
4.2	MATERIAAL.....	4
5	REAGENTIA EN OPLOSSINGEN	5
5.1	REAGENTIA.....	5
5.2	OPLOSSINGEN	5
6	PROCEDURE	8
6.1	MONSTERVEROORBEREIDING	8
6.2	METEN.....	8
6.2.1	<i>Opstarten van het toestel</i>	8
6.2.2	<i>Controle van blanco en reagentia</i>	8
6.2.3	<i>Kalibratie</i>	9
6.2.4	<i>Meting monsters</i>	9
6.2.5	<i>Controle van de procedure</i>	9
7	BEREKENING	10
8	REFERENTIES	10

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze methode beschrijft de bepaling van nitraat-N, nitriet-N of de som van beide met een doorstroomanalyzesysteem. Ze is toepasbaar voor analyse van grond-, drink-, oppervlakte- en afvalwater en dit in het concentratiegebied van 0,01 tot 1 mg /l voor nitriet(N) en van 0,2 tot 20 mg/l voor nitriet/nitraat (N)(som van nitriet en nitraat-N), beide in onverdund monster. Nitraat wordt gegeven door het verschil van nitriet/nitraat en nitriet bepaling. Het toepassingsgebied kan worden gewijzigd door de werkomstandigheden te wijzigen.

2 PRINCIPE

Het monster wordt gemengd met een bufferoplossing. De stroom wordt vervolgens door een cadmium-koperreductor geleid waar alle nitraat kwantitatief wordt omgezet naar nitriet . Dan wordt een een fosforzuur-reagensoplossing, bijgemengd. Nitriet dat initieel aanwezig is en nitriet ontstaan uit de reductie van nitraat zal sulfanilamide in de zuuroplossing diazoteren tot het diazoniumzout, dat dan aan N-(1-naftyl)etheendiamine wordt gekoppeld om een rode kleurstof te vormen Deze wordt in een doorstroomfotocel bij 540 nm gemeten. Indien enkel nitriet dient bepaald, wordt de cadmiumreductie weggelaten.

3 OPMERKINGEN

- Voor conservering zie WAC/I/A/010.
- Zeewater kan worden geanalyseerd met veranderingen ten opzichte van gevoeligheid en aanpassing van de drageroplossing en de kalibratieoplossingen aan het zoutgehalte van de monsters.
- De filtratie van het monster is noodzakelijk indien het deeltjes bevat met een deeltjesgrootte groter dan 0,1 mm, mits significant verlies van nitriet/nitraat wordt uitgesloten.
- Indien in de opstelling een dialysemembraan is opgenomen worden de meeste storende componenten tegengehouden. Als alternatief kan het monster door actieve kool worden gefilterd, mits veranderingen van de massaconcentratie van nitriet of nitraat in het monster kunnen worden uitgesloten.
- Verdun monsters met een totale zoutconcentratie groter dan 30 g/l voor de meting.
- Storingen kunnen optreden indien het monster, na bijmenging van de bufferoplossing, niet een pH van 6,5-7,5 bereikt. Dit kan gebeuren bij sterke zure, basische of gebufferde monsters. In dit geval moet het monster voor de meting op de juiste wijze met base of zuren worden behandeld om de bovengenoemde pH te bereiken .
- Oppervlakteactieve stoffen met concentraties groter dan 10 mg/l kunnen storen, deze storing kan door dialyse van het monster voorkomen worden.

4 APPARATUUR EN MATERIAAL

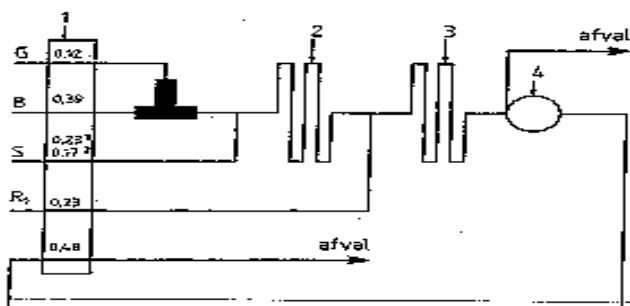
4.1 Apparatuur

4.1.1 Een doorstroomanalyzesysteem met

- een module voor de bepaling van nitriet(N) (zie figuur 1a)

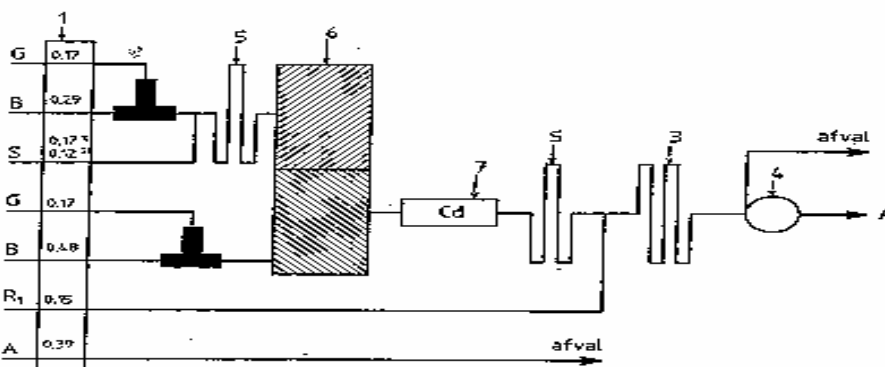
- een module voor de bepaling van nitriet/nitraat(N) (zie figuur 1b).
- een autosampler
- een fotometer
- een computer met sturing- en verwerkingssoftware

Voorbeelden van "continuous flow"-systemen voor de bepaling van nitraat-(N) en nitriet/nitraat-(N)



- 1) 0,01 mg/l tot 0,1 mg/l nitriet-(N)
- 2) 0,1 mg/l tot 1,0 mg/l nitriet-(N)

a) Bepaling van nitriet-(N)



- 1) 0,2 mg/l tot 2 mg/l nitriet/nitraat-(N)
- 2) 2 mg/l tot 20 mg/l nitriet/nitraat-(N)

b) Bepaling van nitriet/nitraat-(N)

Sleutel

- | | | | |
|----------------|--|---|---|
| A | Reactiemengsel, de detector ondersteunend en gaat terug naar de pomp | 4 | Detector (1 cm) 520 nm tot 580 nm |
| B | Buffer-oplossing | 5 | Reactiespoel / 30 cm / Ø inw. 0,5 mm |
| G | Segmenteringas voor nitriet/stikstof / stikstof | 6 | Dialysator (blok) 15 cm / 0,2 mg/l tot 2 mg/l nitriet/nitraat-(N) / 1 cm / 2 mg/l tot 20 mg/l nitriet/nitraat-(N) |
| R ₁ | Reagens-oplossing | 7 | Cadmiumreductor bijv. cadmiumbuis / 5 cm / Ø inw. 4 mm |
| 1 | Pomp (stroomsnelheid in ml/min) | | |
| S | Monster | | |
| 2 | Reactiespoel / 40 cm / Ø inw. 1 mm | | |
| 3 | reactiespoel / 30 cm / Ø inw. 0,5 mm | | |

Figuur 1: voorbeeld van doorstroomanalysestelsel voor de bepaling van nitriet(N), nitriet/nitrat(N) en nitraat(N).

4.2 Materiaal

- 4.2.1 Maatkolven voor het aanmaken van de ijkreeks
- 4.2.2 Maatkolven voor het eventueel aanmaken van verdunningen
- 4.2.3 Automatische pipetten voor het aanmaken van ijkreeks

5 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

5.1 Reagentia

- 5.1.1 Ultra puur water: (elektrische geleidbaarheid kleiner dan $0,1 \text{ mS m}^{-1}$, equivalent met een weerstand groter dan $0,01 \text{ M}\Omega \text{ m}$ bij 25°C). Het wordt aangeraden water te gebruiken van een water zuiveringssysteem dat ultra puur water levert met een weerstand groter dan $0,18 \text{ M}\Omega \text{ m}$ (doorgaans door leveranciers uitgedrukt als $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$).
- 5.1.2 Orthofosforzuur, H_3PO_4 , 85%
- 5.1.3 Sulfanilamide, $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$
- 5.1.4 α -naphthylethylene diamine dihydrochloride, $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$
- 5.1.5 Natriumnitriet, NaNO_2 , tot constant gewicht gedroogd bij 105°C .
- 5.1.6 Kaliumnitraat, KNO_3 , tot constant gewicht gedroogd bij 105°C .
- 5.1.7 Imidazol, $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$
- 5.1.8 Ammoniumchloride, NH_4Cl
- 5.1.9 Zoutzuur, HCl , 37%
- 5.1.10 Detergensoplossing (zie specificaties leverancier)
- 5.1.11 Cadmiumkorrels (0.3 – 1 mm, gezeefd) of geactiveerde Cd korrels
- 5.1.12 Kopersulfaatpentahydraat, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Opmerking: activeren van Cd korrels

- De gezeefde cadmiumkorrels ($\pm 2,5 \text{ g}$) (5.1.11) worden gedurende gewassen met 1M HCl (5.2.1) totdat het oppervlak van de cadmiumkorrels een metallische glans vertoont.
- Spoel daarna meerdere keren met ultra puur water om al het zuur te verwijderen.
- Voeg $\pm 50 \text{ ml}$ kopersulfaatoplossing (5.2.3) toe en zwenk zachtjes om gedurende 2 min. Het cadmiumoppervlak zal nu zwart worden.
- Giet af en spoel goed met ultra puur water.
- Vul de kolom met het cadmium, vermijd open ruimtes.
- Vul de kolom met imidazoloplossing, zonder luchtbelllen, en bewaar.
- Zuig met een spuit ongeveer 20ml van de imidazol-voorraadoplossing aan door de buis en geef gelegenheid te reageren, vermijd luchtbelllen.

5.2 Oplossingen

- 5.2.1 HCl , 1M: breng $82,8 \text{ ml}$ HCl_c (5.1.9) over in een maatkolf van 1l en leng aan met ultra puur water.
- 5.2.2 Kopersulfaatoplossing (I): los $2,5 \text{ g}$ kopersulfaat (5.1.12) op in ultra puur water en leng aan tot 1l.
- 5.2.3 Kopersulfaatoplossing (II): los 20 g kopersulfaat (5.1.12) op in ultra puur water en leng aan tot 1l.
- 5.2.4 Imidazol-voorraadoplossing, 0,25M: Los 17 g imidazol (5.1.7) op in $\pm 900 \text{ ml}$ ultra puur water, voeg onder roeren HCl_c (5.1.9) toe en breng de pH op 7,5. Leng aan tot 1l met ultra puur water.

Bewaard in een bruine glazen fles bij kamertemperatuur is deze oplossing 4 weken stabiel.

5.2.5 Bufferoplossing : Meng 100 ml van de imidazol-voorraadoplossing (5.2.4) met 100µl kopersulfaatoplossing (I) (5.2.2).

Bereid de oplossing vers voor gebruik.

Opmerking: Als alternatief kan een ammonium-bufferoplossing worden gebruikt: vb. 85 g ammoniumchloride (5.1.8) oplossen in ± 950 ml ultra puur water, pH op 7,5 brengen en aanlengen tot 1 l

5.2.6 Verdunningsoplossing B in figuren 1a en 1b.

Voor de bepaling van nitriet zijn er 3 mogelijkheden: water, buffer , of geen oplossing.

Indien water of buffer wordt gebruikt, 1ml detergensoplossing (5.1.10) per liter toevoegen.

Indien oplossing B wordt weggelaten moet de detergensoplossing (5.1.10) aan de reagensoplossing R1 worden toegevoegd.

Voor de bepaling van nitriet/nitraat wordt buffer (5.2.5) gebruikt.

5.2.7 Gebufferde kopersulfaatoplossing : meng 20 ml kopersulfaatoplossing (II) (5.2.3.) en 20 ml van de imidazol-voorraadoplossing (5.2.4) .

Bereid vers voor gebruik.

5.2.8 Reagensoplossing, R1: los 5 g sulfanilamide (5.1.3.) en 0,5 g α -naphthylethylene diamine dihydrochloride (5.1.4) op in ultra puur water, voeg 50 ml fosforzuur (5.1.2) toe en leng aan tot 500 ml met ultra puur water.

Bewaard in een bruine glazen fles is deze oplossing ten minste een week stabiel.

Opmerking: voor de bereiding van deze oplossing mag ook zoutzuur (5.1.9, 5.2.1) worden gebruikt ipv fosforzuur, mits dezelfde prestatiekenmerken worden verkregen. De oplossingen van sulfanilamide (5.1.3) en α -naphthylethylene diamine dihydrochloride (5.1.4) kunnen ook afzonderlijk worden gemaakt en met verschillende leidingen in het toestel worden gedoseerd.

5.2.9 nitriet-N-oplossing stockoplossing, 100 mg/l N: los 492,6 g natriumnitriet (5.1.5) op in ultra puur water en leng aan tot 1 l.

In een afgesloten glazen fles, bewaard bij 4°C, is deze oplossing ten minste 2 weken stabiel.

5.2.10 nitriet-N-oplossing, 20 mg/l N: pipetteer 20 ml van de stockoplossing (5.2.9) in een maatkolf van 100 ml en leng aan met ultra puur water tot 100 ml.

Bereid de oplossing vers voor gebruik

5.2.11 nitriet-N-oplossing, 1mg/l N:pipetteer 1 ml van de stockoplossing (5.2.9) in een maatkolf van 100 ml en leng aan met ultra puur water tot 100 ml.

Bereid de oplossing vers voor gebruik.

5.2.12 nitraat-N-oplossing, 200 mg/l N: los 144,4 mg kaliumnitraat (5.1.6) op in ultra puur water en leng aan tot 100 ml.

5.2.13 nitraat-N-oplossing, 20 mg/l N: pipetteer 10 ml van de nitraatoplossing (5.2.12) in een maatkolf en leng aan met ultra puur water tot 100 ml.
Bereid de oplossing vers voor gebruik.

5.2.14 Kalibratieoplossingen

De kalibratieoplossingen worden bereid door de verdunning van de respectievelijke oplossingen beschreven in 5.2.10 tot 5.2.13. Deze oplossingen mogen in elke combinatie voor de bereiding van kalibratieoplossingen gebruikt worden. Het wordt aanbevolen voor elk werkgebied ten minste vijf kalibratie-oplossingen te bereiden.

De volgende werkgebieden zijn gegeven:

Voor nitriet (N): werkgebied II: 0,01 tot en met 0,1 mg/l
 Werkgebied I: 0,1 tot en met 1,0 mg/l

Voor nitriet/nitraat(N): werkgebied II: 0,2 tot en met 2 mg/l
 Werkgebied I: 2 tot en met 20 mg/l

Ga, bijvoorbeeld, verder zoals in tabel 1 en 2 wordt aanbevolen (indien 10 standaarden worden gebruikt). Alle kalibratieoplossingen worden onmiddellijk voor meting bereid.

Tabel 1: Bereiding van de kalibratieoplossingen voor nitriet-N.

Nitriet-(N) Concentratie (mg/l)	Volume nitriet- (N)(5.2.11) verdund met H ₂ O tot 100 ml	Nitriet-N Concentratie (mg/l)	Volume nitriet- (N) (5.2.10) verdund met H ₂ O tot 200 ml
0,01	1	0,1	1
0,02	2	0,2	2
0,03	3	0,3	3
0,04	4	0,4	4
0,05	5	0,5	5
0,06	6	0,6	6
0,07	7	0,7	7
0,08	8	0,8	8
0,09	9	0,9	9
0,10	10	1,0	10

Tabel 2: Bereiding van de kalibratie-oplossingen voor nitriet/nitraat-N.

Nitraat-(N) Concentratie (mg/l)	Volume nitraat- (N)(5.2.13) verdund met H ₂ O tot 100 ml	Nitraat-N Concentratie (mg/l)	Volume nitraat- (N) (5.2.12) verdund met H ₂ O tot 100 ml
0,2	1	2	1
0,4	2	4	2
0,6	3	6	3
0,8	4	8	4
1,0	5	10	5
1,2	6	12	6
1,4	7	14	7
1,6	8	16	8
1,8	9	18	9
2,0	10	20	10

6 PROCEDURE

6.1 Monstervoorbereiding

- mogelijke storingen : zie §3
- indien de te bepalen massaconcentraties groter zijn dan het geldigheidsgebied van het gekozen werkgebied, verdun dan het monster of analyseer het met een ander werkgebied.

6.2 Meten

6.2.1 Opstarten van het toestel

Monteer het doorstroomsysteem volgens de gewenste bepalingmethode en/of volgens de voorschriften van de fabrikant.

Laat voor de meting van nitriet, de reagensoplossingen gedurende 10 min. door het doorstroomsysteem lopen.

Laat, voor meting van nitriet/nitraat-N, de reagensoplossingen gedurende ongeveer 10 min. door het systeem lopen zonder de cadmiumreductor aan te sluiten, en daarna ongeveer 10 min. met cadmiumreductor. Registreer de basis-absorptie en stel af op 0.

Het systeem is klaar wanneer de basislijn geen verloop meer vertoont. Er moet een acceptabele signaal-ruis verhouding verkregen worden.

6.2.2 Controle van blanco en reagentia

Laat basislijn stabiliseren.

Transporteer in plaats van bufferoplossing B (5.2.6) en reagensoplossing R1 (5.2.8) gedurende 2 min. water, en registreer veranderingen in het meetsignaal.

Indien de absorptie meer dan 0,015 per 10 mm weglengte verandert, kan ofwel het gebruikte water ofwel de reagensoplossing vervuild zijn. Neem passende maatregelen om de storing te verwijderen.

Transporteer opnieuw reagensoplossingen door het systeem.

Opmerking: De blanco controle van de reagentia is optioneel.

6.2.3 Kalibratie

Kies het respectievelijke werkgebied voor nitriet-N of nitiet/nitraat-N en bereid de kalibratieoplossingen voor het gekozen werkgebied. (zie 5.2.14). Elk werkgebied vereist zijn eigen kalibratie.

Het wordt aanbevolen voor elk werkgebied ten minste vijf kalibratie-oplossingen te bereiden.

Stel het instrument voor de kalibratie op nul, indien dit volgens de handleiding van de fabrikant nodig is.

Bepaal de gemeten waarden van de gebruikte kalibratieoplossingen, waarbij de handleiding van de fabrikant wordt gevolgd, zolang als deze niet in tegenspraak zijn met de specificaties van deze internationale norm.

Meet de kalibratiestandaarden en stel vervolgens een ijkcurve op. De grootte van het meetsignaal is evenredig met de massaconcentratie nitriet-N of nitraat/nitriet N, de ijkcurve dient lineair te zijn.

6.2.4 Meting monsters

Analyseer de voorbehandelde monsters op dezelfde manier als de kalibratie-oplossingen . indien de te bepalen massaconcentraies groter zijn dan het geldigheidsgebied van het gekozen werkgebied, verdun dan het monster of analyseer het met een ander werkgebied.

6.2.5 Controle van de procedure

- Een kalibratieoplossing met een nitriet-N concentratie van 0,05 mg/l N of een nitraat-N concentratie van 1 mg/l , gemeten in het lage werkgebied, moet een absorptie geven van ten minste 0,04 per 10 mm weglengte.

Opmerking: De minimum absorptie dient gecontroleerd te worden, echter de gebruikte concentratie en de toegepaste procedure kan afwijken t.o.v. bovenstaande procedure.

- Controle van reductiecapaciteit:
Alleen van toepassing bij de bepaling van nitraat/nitriet-N:
Analyseer achtereenvolgens een nitraat-N en een nitriet-N oplossing met een massaconcentratie stikstof van elk 2 mg/l voor het nitriet/nitraat-N-werkgebied(II) of van elk 20 mg/l voor het nitriet/nitraat-N-werkgebied(I) en vergelijk de gemeten waarden.
Indien de gemeten waarde voor nitraat-N kleiner is dan 90% van de gemeten nitriet-N-waarde moeten passende maatregelen genomen worden.
Controleer de reductiecapaciteit opnieuw voor de analyse van elke meetreeks.

- Controleer de geldigheid van de kalibratiefunctie in het respectievelijke werkgebied na elke reeks monsters, maar op zijn laatst na de meting van 10 tot 20 monsters, met een kalibratie oplossing elk voor de onderste en bovenste éénderde van het respectievelijke werkgebied. Controleer weer de reductiecapaciteit of maak indien nodig, een nieuwe kalibratie.

7 BEREKENING

Bepaal de massaconcentratie van de te bepalen stof in de meetoplossing met de gemeten waarde verkregen zoals beschreven, uit de kalibratiefunctie.

Meestal gebeurt de berekening door het toestel zelf en dient het resultaat enkel afgelezen worden. Hou indien nodig wel rekening met aangemaakte verdunningen.

8 REFERENTIES

- EN-ISO 13395: 1996 Water quality; Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection.