

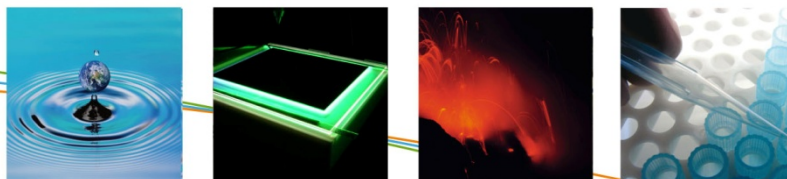
Eindrapport

Evaluatie discrete analyser voor de bepaling van nitraat en ammonium in bodem en mest

C. Vanhoof, A. Cluyts, E. Poelmans, W. Wouters en K. Tirez

Studie uitgevoerd in opdracht van VLM:
2012/MANT/R/04

Januari 2012



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

SAMENVATTING

Voor de analyse van anionen en kationen in water die in het kader van de Vlaamse wetgeving worden uitgevoerd, wordt de discrete analyser meer en meer ingezet. Deze toestellen zijn geautomatiseerde spectrofotometers met een grote flexibiliteit en mogelijkheid tot grote omzet van parameters en monsters. De huidige BAM-methoden omvatten echter enkel manuele en/of doorstroomanalysemethoden voor deze parameters en er is geen controle over de juistheid en inzetbaarheid van de gebruikte procedures met de discrete analyser binnen de verschillende laboratoria. Bijgevolg is het noodzakelijk om na te gaan of deze methoden universeel inzetbaar zijn voor de matrices relevant in het kader van analyses van het Mestdecreet en of de kwaliteit en betrouwbaarheid van de analysedata voor deze parameters kan worden gegarandeerd.

Voor de analyses in het kader van het Mestdecreet werd de inzetbaarheid van de discrete analyser geëvalueerd voor de bepaling van volgende parameters:

- Bepaling van ammonium in neutraal medium, in KCl medium en in zuur medium
- Bepaling van TON (nitraat+nitriet) in neutraal medium en KCl medium
 - Met hydrazine methode
 - Met Cd reductie methode
- Bepaling van nitriet in KCl medium

Bij evaluatie van de inzetbaarheid van de discrete analyser (met de AQ2+) kunnen volgende besluiten geformuleerd worden:

- Bodemonsters:
 - Bepaling van NO₃ in het KCl extract
 - Hydrazine methode: *beperkt inzetbaar*, beperking wat betreft gevoeligheid
 - Cd methode: *inzetbaar*
 - Bepaling van NO₂ in het KCl extract: *inzetbaar*
 - Bepaling van NH₄ in het KCl extract : *inzetbaar*
- Vloeibare dierlijke mest:
 - Bepaling van NH₄ in waterige uitloging: *inzetbaar* – hoge concentratie aan ammonium laat verdunning van het monster toe
 - Bepaling van NH₄ in aangezuurde destructieoplossing voor de bepaling van totaal N: *inzetbaar*
 - Bepaling van som(NO₃ en NO₂) (als bijdrage bij totaal N bepaling) in waterige uitlogingen van mest (hydrazine methode en Cd methode):
 - *niet inzetbaar*: bij vloeibare dierlijke mest
 - *inzetbaar*: bij effluenten van de mestverwerking- hoge concentratie aan TON laat verdunning van het monster toe
- Vaste dierlijke mest:
 - Bepaling van NH₄ in KCl: *inzetbaar* – hoge concentratie aan ammonium laat verdunning van het monster toe
 - Bepaling van NH₄ in aangezuurde destructieoplossing voor de bepaling van totaal N: *inzetbaar*
 - Bepaling van som(NO₃ en NO₂) (als bijdrage bij totaal N bepaling) in KCl uitlogingen van mest (hydrazine methode en Cd methode): *niet inzetbaar*

Bij de evaluatie werd vastgesteld dat bij analyse van de mestmonsters (vaste en vloeibare dierlijke mest) de matrix een significante invloed heeft op het uiteindelijke analyseresultaat. Indien het gehalte aan te analyseren component hoog is, kan het monster sterk verdund worden (factor 50 à

100) en zal bijgevolg de bijdrage van de matrix ondervangen worden. Bij deze monsters kan de discrete analyser enkel ingezet worden indien na verdunning nog wordt voldaan aan de eis van bepalingsgrens.

In vergelijking met de flow analyser heeft de discrete analyser een eenvoudigere configuratie. Bij 'eenvoudige' matrices is de discrete analyser inzetbaar, maar bij hoog belaste matrices zal de flow analyser een meerwaarde bieden door aanwezigheid van bv. dialysemembraan dat in staat is om een deel van de aanwezige storende interferenten te ondervangen. Bovendien wordt bij de flow analyser 'overflow' vastgesteld, dwz indien de concentratie van het monster te hoog is en bijgevolg buiten het meetgebied valt (overflow). Bij de discrete analyser daarentegen wordt dit niet waargenomen en kunnen foutieve resultaten gerapporteerd worden. Bij monsters met een hoog ammonium gehalte wordt een waarde < rapporteergrens bekomen indien deze onverdund worden gemeten. Enkel door het monster meerdere keren te verdunnen en te doperen kan gecontroleerd worden of het uiteindelijke resultaat de werkelijke waarde benadert.

Voorafgaandelijk opzuivering van het monster gevolgd door discrete analyser is eveneens mogelijk, maar dan zal de automatisatie en de eenvoud van de analyse verloren gaan.

INHOUD

Samenvatting	I
Inhoud	III
Lijst van tabellen	V
Lijst van figuren	VI
HOOFDSTUK 1. Analyse van anionen en kationen	7
1.1. <i>Inleiding</i>	7
1.2. <i>Spectrofotometrische bepaling van anionen en kationen</i>	7
1.3. <i>Evaluatie inzetbaarheid van de discrete analyser</i>	10
1.3.1. <i>Werkwijze van de discrete analyser</i>	11
1.3.2. <i>Validatie van de discrete analyser methoden</i>	12
HOOFDSTUK 2. Bepaling van ammonium in neutraal, in KCl en in zuur medium	13
2.1. <i>Principe</i>	13
2.2. <i>Interferenties</i>	13
2.3. <i>Reagentia</i>	13
2.4. <i>Resultaten ammonium in standaardoplossingen aangemaakt in neutraal medium, 1M KCl en in 0.1N H₂SO₄</i>	14
2.5. <i>Resultaten ammonium in KCl extract van bodemmonsters</i>	16
2.6. <i>Resultaten ammonium in KCl extract van vaste dierlijke mestmonsters</i>	17
2.7. <i>Resultaten ammonium in waterig extract van vloeibare dierlijke mestmonsters</i>	18
2.8. <i>Resultaten ammonium in destructie oplossing van vloeibare en vaste dierlijke mestmonsters</i>	19
2.9. <i>Besluit</i>	20
HOOFDSTUK 3. Bepaling van nitriet in KCl extracten	21
3.1. <i>Principe</i>	21
3.2. <i>Interferentie</i>	21
3.3. <i>Reagentia</i>	21
3.4. <i>Resultaten nitriet in 1M KCl</i>	21
3.5. <i>Resultaten nitriet in gedopeerde KCl extracten van reële bodemmonsters</i>	22
3.6. <i>Besluit</i>	23
HOOFDSTUK 4. Bepaling van nitraat en nitriet met de hydrazine methode	24
4.1. <i>Principe</i>	24
4.2. <i>Interferentie</i>	24

4.3.	<i>Reagentia</i>	24
4.4.	<i>Resultaten TON met hyrazine in water</i>	25
4.5.	<i>Resultaten TON met hyrazine in waterige extracten van effluenten afkomstig van mestverwerking en vloeibare dierlijke digestaten</i>	26
4.6.	<i>Resultaten TON met hyrazine in 1M KCl</i>	28
4.7.	<i>Besluit</i>	29
HOOFDSTUK 5.	Bepaling van nitraat en nitriet met een cadmiumkolom	31
5.1.	<i>Principe</i>	31
5.2.	<i>Interferentie</i>	31
5.3.	<i>Reagentia</i>	31
5.4.	<i>Resultaten TON met Cd kolom in water</i>	32
5.5.	<i>Resultaten TON met Cd kolom in waterige extracten van effluenten afkomstig van mestverwerking en vloeibare dierlijke digestaten</i>	33
5.6.	<i>Resultaten TON met Cd kolom in 1M KCl</i>	34
5.7.	<i>Resultaten TON met Cd kolom in KCl extracten van bodemmonsters</i>	35
5.8.	<i>Resultaten TON met Cd kolom in KCl extracten van vaste dierlijke digestaten</i>	36
5.9.	<i>bespreking</i>	37
HOOFDSTUK 6.	Besluit	38
Literatuurlijst		40

LIJST VAN TABELLEN

Tabel 1 Voorbeeld methode instellingen	11
Tabel 2 Prestatiekenmerken voor de parameter NH_4 in de standaardoplossingen	14
Tabel 3 Resultaten en rendement van ammonium in KCl extracten van bodems	16
Tabel 4 Resultaten en rendementen van ammonium in KCl extracten van mestmonsters	18
Tabel 5 Resultaten en rendementen van ammonium in extracten van vloeibare mestmonsters	19
Tabel 6 Prestatiekenmerken voor de parameter NO_2 in 1M KCl	22
Tabel 7 Rendement van de dopering	23
Tabel 8 Prestatiekenmerken voor de parameter TON met hydrazine in water	26
Tabel 9 Resultaten van TON (Hydrazine) in waterige uitloging van effluenten	27
Tabel 10 Resultaten van TON (Hydrazine) in waterige uitloging van vloeibare digestaten	28
Tabel 11 Resultaten onafhankelijke controlestandaarden voor TON-hydrazinemethode in 1M KCl	29
Tabel 12 Prestatiekenmerken voor de parameter TON- Cd kolom in water	32
Tabel 13 Resultaten van TON (Cd kolom) in waterige uitloging van effluenten	34
Tabel 14 Prestatiekenmerken voor de parameter TON- Cd kolom in 1M KCl	35
Tabel 15 Resultaten van TON (Cd kolom) in 1M KCl in vaste dierlijke digestaten	36

LIJST VAN FIGUREN

Figuur 1 Schema discrete analyser (Bron: Thermo Scientific)	8
Figuur 2 Discrete analyser (AQ2+) met vaste optische meetcel (Bron: Seal Analytical)	8
Figuur 3 Selectie van mogelijke extra modules bij doorstroomanalyse (verwarming, destillatie, dialyse (Bron: Skalar)	10
Figuur 4 Prestatiekenmerken voor de parameter NH_4 (in neutraal medium)	15
Figuur 5 Prestatiekenmerken voor de parameter NH_4 (in 1M KCl)	15
Figuur 6 Prestatiekenmerken voor de parameter NH_4 in 0.1N H_2SO_4 medium	16
Figuur 7 Vergelijkende metingen (n=12) van ammonium in KCl extracten van vaste dierlijke mest	17
Figuur 8 Vergelijkende metingen (n=15) van ammonium in extracten van vloeibare dierlijke mest	18
Figuur 9 Vergelijkende ammonium metingen (n=17) na Kj-N destructie van mestmonsters	20
Figuur 10 Prestatiekenmerken voor de parameter NO_2 in 1M KCl	22
Figuur 11 Bepaling van NO_2 in gedopeerde KCl extracten van bodems (n=12)	23
Figuur 12 Prestatiekenmerken voor de parameter TON - hydrazinemethode in water	26
Figuur 13 Vergelijkende analyses (n=9) van TON (Hydrazine) in waterige uitlogingen van effluenten	27
Figuur 14 Voorbeeld kalibratie voor TON hydrazinemethode in 1M KCl	28
Figuur 15 Prestatiekenmerken voor de parameter TON-Cd kolom in water	33
Figuur 16 Vergelijkende analyses (n=9) van TON (Cd kolom) in waterige uitlogingen van effluenten	34
Figuur 17 Prestatiekenmerken voor de parameter TON-Cd kolom in 1M KCl	35
Figuur 18 Vergelijkende analyses (n=18) van TON (Cd kolom) in KCl extract van bodem	36

HOOFDSTUK 1. ANALYSE VAN ANIONEN EN KATIONEN

1.1. INLEIDING

Voor de analyse van anionen en kationen in water die in het kader van de Vlaamse wetgeving worden uitgevoerd, wordt de discrete analyser meer en meer ingezet. Deze toestellen zijn geautomatiseerde spectrofotometers met een grote flexibiliteit en mogelijkheid tot grote omzet van parameters en monsters.

De huidige WAC-methoden omvatten echter enkel manuele en /of doorstroomanalysemethoden voor deze parameters en er is geen controle over de juistheid en inzetbaarheid van de gebruikte procedures met de discrete analyser binnen de verschillende laboratoria. Bijgevolg is het noodzakelijk om na te gaan of deze methoden universeel inzetbaar zijn voor alle waterige matrices en of de kwaliteit en betrouwbaarheid van de analysedata voor deze parameters kan worden gegarandeerd.

Op internationaal niveau heeft men een workitem gedefinieerd (10/2009) rond discrete analyser (ISO/TC 147 / SC 2 N 1087 "Water Quality - Determination of ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfate by a discrete analysis system and spectrophotometric detection"). Momenteel is de draft normmethode ISO/DIS 15923-1:2011 *Water quality - Determination of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection - Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfate* ter beschikking¹. Deze is gebaseerd op de reeds bestaande Nederlandse normmethode NEN 6604 "Water- Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie."² Het toepassingsgebied van deze normmethode omvat grondwater, drinkwater, oppervlaktewater, afvalwater, eluaten en ketelwater.

Binnen US EPA werd geen afzonderlijke standaardmethoden ontwikkeld voor metingen met de discrete analyser omdat er van uitgegaan wordt dat deze methoden enkel geautomatiseerde methoden zijn van bestaande manuele spectrofotometrische methoden³. Indien een methode die door de discrete analyser wordt toegepast enkel een automatisatie is van de bestaande normmethode, dan zouden de resultaten van de discrete analyser moeten resulteren in vergelijkbare resultaten met de bestaande normmethode. Natuurlijk dient wel voldaan te worden aan de eis dat de precisie, de juistheid en de detectielimiet van de discreet analyser methode voldoet aan de wettelijk vereiste prestatiekenmerken.

1.2. SPECTROFOTOMETRISCHE BEPALING VAN ANIONEN EN KATIONEN

Bij vergelijking van de verschillende spectrofotometrische bepalingen kunnen we volgende methodieken onderscheiden:

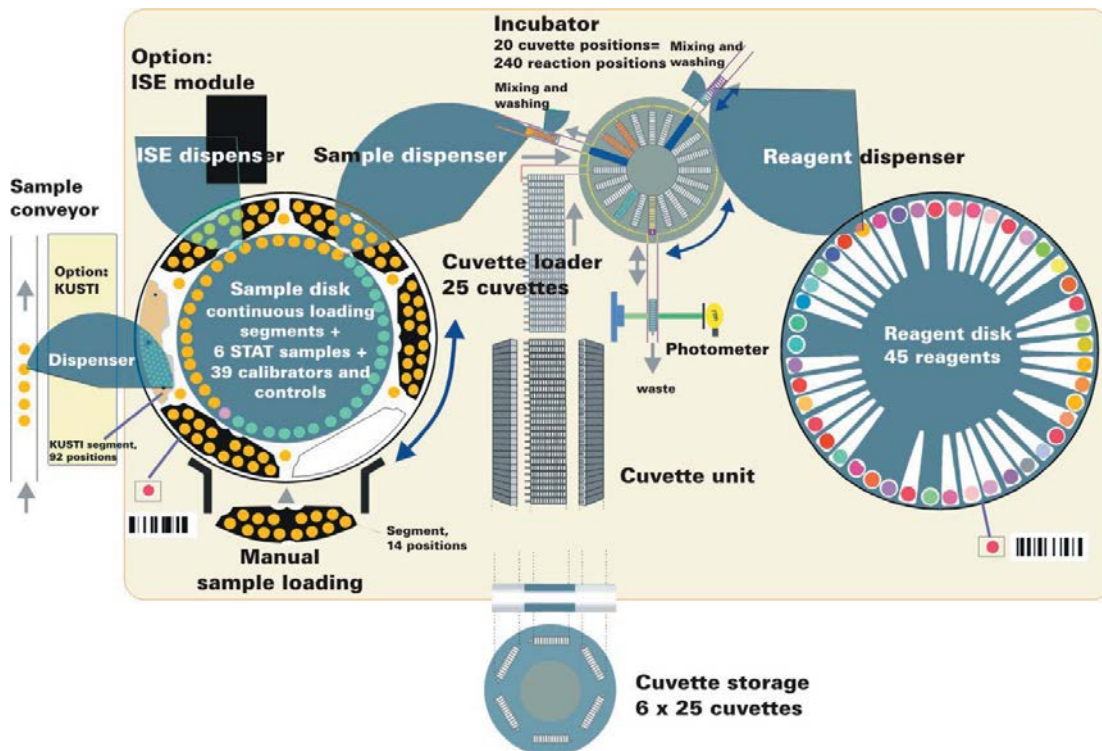
- Manuele spectrofotometrische methoden
- Discrete analyser: geautomatiseerde spectrofotometrische methoden
- Doorstroomanalyse: geautomatiseerde spectrofotometrische methoden met bijkomende opties om interferenten te elimineren of te reduceren bv. dialysemembraan, destillatie, ...

Bij de *manuele spectrometrie* worden aan de monsters en standaarden manueel de verschillende reagentia toegevoegd. Vervolgens wordt het mengsel met de spectrofotometer gemeten.

Bij de *discrete analyser* worden de bovenstaande handelingen automatisch uitgevoerd. Een discrete analyser bestaat typisch uit de volgende onderdelen (Figuur 1):

- sample disk container: carroussel om monsters te positioneren en te koelen;
- reagent disk containers: carroussel om de reagentia koel te bewaren;
- incubator: hier worden het monster en de reagentia bij elkaar gevoegd in een kuvet. In deze cuvetten vindt de reactie plaats. Het monster en de reagentia en monsters worden geïncubeerd gedurende een welbepaalde tijd bij 37°C.
- Hierna wordt de cuvet naar de fotometer geleid die bij een bepaalde golflengte de hoeveelheid licht na absorptie meet.

Bij andere configuraties van discrete analysers wordt niet gewerkt met een multicelcuvet, maar gebeurt de reactie in reactiesegmenten (Figuur 2). Na incubatie bij 37°C wordt de fractie opgezogen en naar een optische kwartscuvet geleid. Dit systeem gebruikt een vaste optische meetcel met een optische weglengte van 10 mm voor het meten van de absorptie bij een welbepaalde golflengte.



Figuur 1 Schema discrete analyser (Bron: Thermo Scientific)



Figuur 2 Discrete analyser (AQ2+) met vaste optische meetcel (Bron: Seal Analytical)

Het grote voordeel van de discrete analyser in vergelijking met andere spectrofotometrische bepalingen is dat het systeem slechts kleine volumes verbruikt – monster: range 5 -500 µl, reagentia: max. 600 µl. Dit resulteert in een laag verbruik van chemische stoffen, weinig productie van afval en een lagere analysekostprijs door het minimale verbruik van de reagentia en de snelheid/automatisatie van de analyse.

In het kort zijn voor- en nadelen van de discrete analyser:

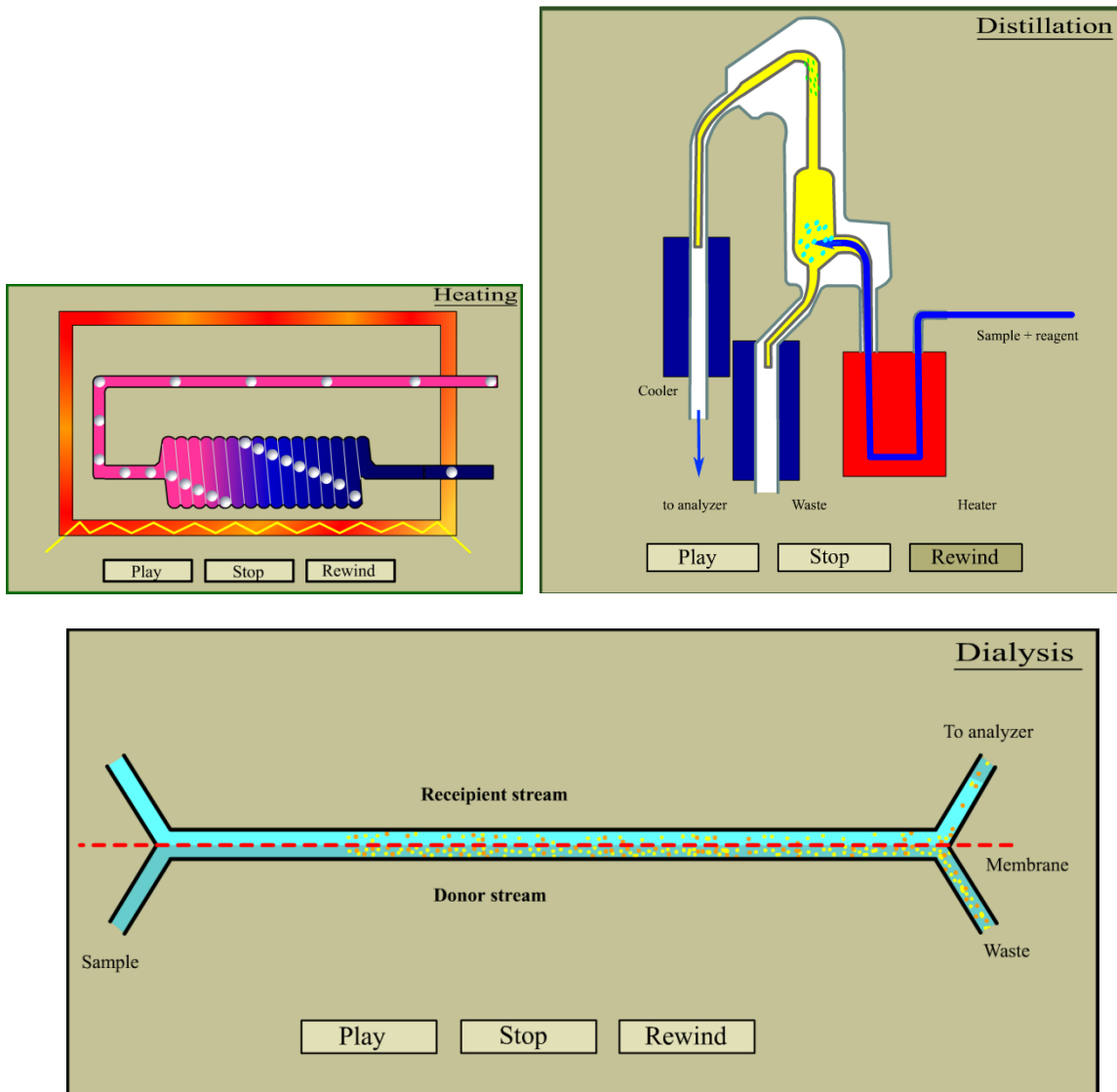
- + Lage kosten door het minimale verbruik van reagentia
- + Minimale operatortijd
- + Volledig geautomatiseerd en hierdoor dag en nacht inzetbaar
- + Flexibiliteit. Het is mogelijk om verschillende parameters gelijktijdig te bepalen.
- Gevoelig voor achteruitgang reagentia omdat het volume reagens dat wordt toegevoegd klein is.
- Wanneer een monster een eigen kleur heeft zal de meting hierdoor gestoord worden.
Opmerking: Dit is van toepassing voor alle spectroscopische technieken.
- Representiviteit van monsters met deeltjes.
Opmerking: Dit kan ook van toepassing zijn voor andere technieken; echter een doorstroomanalyzesysteem is uitgerust met een dialysemembraan waardoor de onoplosbare bestanddelen worden afgezonderd.

Bij de *doorstroomanalysemethode* wordt de spectrofotometrische meting eveneens automatisch uitgevoerd, maar zijn bijkomend een aantal monsterbehandelingen on-line mogelijk. Aan de vloeistofstroom met monster worden, op verschillende tijdstippen, de benodigde reagentia toegevoegd. Bij een gesegmenteerd doorstroomstelsel wordt de vloeistofstroom op regelmatige tijdstippen onderbroken door een luchtbel zodat er segmenten ontstaan die alle even groot zijn. Een doorstroomanalyzesysteem (CFA) bestaat uit verschillende modules, waaronder een monstercarroussel, pomp, reactiespoelen, optionele monsterbehandelingen (dialyse, destillatie, verwarming, etc) en een detector. De meeste doorstroomanalyzesystemen zijn uitgerust met een spectrofotometrische detectie gebruikmakend van een flowcel, echter voor oa. fluoride bepaling bestaat eveneens een systeem met ISE detectie.

De doorstroomanalysemethode heeft als meerwaarde dat door het on-line uitvoeren van bijkomende monsterbehandelingen interferenten kunnen ondervangen worden. Mogelijke modules zijn weergegeven in Figuur 3.

Het dialysemembraan is beschikbaar in de meeste systemen en is in staat om storende componenten tegen te houden. Vooral bij sterk verontreinigde monsters biedt dit een meerwaarde. De destillatie eenheid wordt oa. toegepast bij de bepaling van fluoride om negatieve interferenties, die kunnen optreden door vorming van niet gedissocieerde, stabiele fluoride complexen met kationen (Al^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Ca^{2+}) te reduceren.

Het grote nadeel van het doorstroomanalyzesysteem is het groot verbruik aan reagentia gezien een continue stroom aan reagentia vereist is. Het monsterverbruik ligt in de range van enkele milliliters.



Figuur 3 Selectie van mogelijke extra modules bij doorstroomanalyse (verwarming, destillatie, dialyse (Bron: Skalar)

1.3. EVALUATIE INZETBAARHEID VAN DE DISCRETE ANALYSER

Voor de analyses in het kader van het mestdecreet zou deze techniek kunnen ingezet worden voor de bepaling van volgende parameters:

- Bodemonsters:
 - Bepaling van NO_3 en NH_4 in het KCl extract
- Vloeibare dierlijke mest:
 - Bepaling van NH_4 in waterige uitloging
 - Bepaling van NH_4 in aangezuurde destructieoplossing voor de bepaling van totaal N
 - Bepaling van som(NO_3 en NO_2) (als bijdrage bij totaal N bepaling) in waterige uitlogingen van mest
- Vaste dierlijke mest:
 - Bepaling van NH_4 in KCl

- Bepaling van NH_4 in aangezuurde destructieoplossing voor de bepaling van totaal N
- Bepaling van som(NO_3 en NO_2) (als bijdrage bij totaal N bepaling) in KCl uitlogingen van mest

ISO/DIS 15923 beschrijft methoden voor de automatische uitvoering van spectrofotometrische en turbidimetrische analyses met een discrete analyser. Het toepassingsgebied van deze normmethode omvat grondwater, drinkwater, oppervlaktewater, afvalwater, eluaten en ketelwater. Voor betreft analyses met discrete analyser van uitlogingen van bodems en dierlijke mest (vloeibaar en vast) zijn er nog geen normontwikkelingen op Internationaal niveau.

Binnen het VITO laboratorium werd de inzetbaarheid van de discrete analyser geëvalueerd voor de bepaling van de volgende parameters:

- Bepaling van ammonium in neutraal medium, in KCl medium en in zuur medium
- Bepaling van TON (nitraat+nitriet) in neutraal medium en KCl medium
 - Met hydrazine methode
 - Met Cd reductie methode
- Bepaling van nitriet in KCl medium

Voor dit type van monsters dient specifieke aandacht besteed te worden aan volgende items:

- NO_3 in het KCl extract: invloed van de KCl matrix op de juistheid van het analyseresultaat;
- NH_4 in KCl extract: invloed van de KCl matrix op de gevoeligheid van de methode
- NH_4 en som(NO_3 en NO_2) in uitlogingen van mest: interferentie van de organische matrix in de uitlogingen op de juistheid/gevoeligheid

De validatie van de discrete analyser in het VITO laboratorium werd uitgevoerd met de AQ2+ discrete analyser (zie Figuur 2).

1.3.1. WERKWIJZE VAN DE DISCRETE ANALYSER

Voorbehandeling van de monsters

Bij analyses met discrete analyser is er geen specifieke voorbehandeling noodzakelijk. Natuurlijk is het steeds noodzakelijk om een representatief deelmonster te nemen van het te analyseren monster. Indien nodig en gewenst, kan het toestel het monster automatisch verdunnen. De verdunningen gebeuren steeds met dezelfde verdunningsoplossing als de werkstandaarden.

Aanmaken van de meetmethode

Per parameter werd een methode aangemaakt. Deze bevatte alle gegevens voor een parameter. Voorbeeld van de instellingen van een methode is te vinden in Tabel 1.

Tabel 1 Voorbeeld methode instellingen

Volume staal	400 μL
Volume water	16 μL
Reagens 1	84 μL
Reactie tijd	360 s
Golflengte	520 nm
Kalibratie	1 ^{ste} orde

Kalibratie

Voor de kalibratie werd een cupje met de hoogste standaard van de te bepalen parameter gevuld en op een juiste positie gezet. De nodige verdunningen voor het opstellen van de ijklijn werden automatisch aangemaakt. Bij automatische verdunning van de standaarden/monsters werd de range van verdunnen bepaald door de minimale doseerhoeveelheid van de pipet.

Alternatief kunnen de verschillende standaardoplossingen manueel worden aangemaakt.

Uit de bekomen meetwaarden werd de regressiecoëfficiënt berekend.

Controle van de kalibratie

Ter controle van de ijklijn werden tijdens de validatie steeds 3 onafhankelijke controle standaarden gemeten. De eerste standaard lag op het laagste ijkpunt (=QC 1), de tweede op 1/4 (=QC 2) en de derde op 3/4 (=QC 3) van het ijkgebied.

Reinigingsprocedure

Deze verloopt automatisch en wordt uitgevoerd met H₂O en/of NaOH en/of detergent.

1.3.2. VALIDATIE VAN DE DISCRETE ANALYSER METHODEN

Bij de validatie van een parameter met de discrete analyser werden volgende prestatiekenmerken bepaald:

- Aantoonbaarheidsgrens
- Precisie (herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid)
- Juistheid

Tijdens deze studie werd de validatie uitgevoerd op standaardoplossingen met verschillende concentratieniveaus in het relevante medium (neutraal, 1M KCl of 0.1N H₂SO₄). Voor de validatie van de procedure voor ultra puur water werden per parameter drie onafhankelijke controlestandaarden (QC 1, QC 2 en QC 3) gebruikt. De eerste standaard lag op het laagste ijkpunt (=QC 1), de tweede op 1/4 (=QC 2) en de derde op 3/4 (=QC 3) van het ijkgebied.

Voor het bepalen van de herhaalbaarheid werden deze drie controlestandaarden 10 maal per dag gemeten. De reproduceerbaarheid werd bepaald door deze metingen op 5 verschillende dagen te herhalen. Uit de resultaten van de verschillende metingen (n=50) kon de juistheid berekend worden.

Voor de validatie van de verschillende parameters in reële monsters werden bodem- en mestmonsters geïncubeerd die na destructie/uitloging, al dan niet gedopeerd, werden geanalyseerd in duplo. De duplo analyses werden uitgevoerd met minstens 2 verschillende ijklijnen. Deze duplo analyses werden, indien mogelijk, op verschillende dagen uitgevoerd. De bekomen resultaten werden vergeleken met de resultaten van de referentiemethode.

HOOFDSTUK 2. BEPALING VAN AMMONIUM IN NEUTRAAL, IN KCL EN IN ZUUR MEDIUM

De bepaling van de parameter ammonium werd uitgevoerd volgens de methode beschreven in NEN 6604. Deze parameter werd gevalideerd voor metingen in neutraal medium (niet geconserveerd), voor metingen in 1M KCl extract en voor metingen in zuur medium (conservering met 0.1N H₂SO₄ of destructieoplossingen voor de bepaling van totaal N/Kjeldahl-N opgevangen in 0.1N H₂SO₄).

Voor de bepaling van ammonium in KCl en in zuur medium werden alle standaarden en verdunningen aangemaakt in 1 M KCl en 0.1N H₂SO₄, respectievelijk.

2.1. PRINCIPE

Ammonium reageert met hypochloriet, gevormd door alkalische hydrolyse van natriumdichloorisocyanuraat, en met salicylaat bij een pH van ca. 12.6 in aanwezigheid van natriumnitroprusside als katalysator tot een blauw gekleurde verbinding. Het reagens bevat citraat om interferentie door kationen, vooral calcium- en magnesiumionen, te maskeren. De extinctie bij 660 nm is een maat voor het ammoniumgehalte.

2.2. INTERFERENTIES

Interferentie door kationen, met name Ca en Mg, worden gemaskeerd door citraat. In zoute monsters kan deze interferentie desondanks toch voorkomen als de complexerende capaciteit van het citraat wordt overschreden. Dit kan worden voorkomen door het uitvoeren van een destillatie. De destillatie kan ook worden toegepast bij sterk gekleurde monsters. Deze optie is niet beschikbaar bij de discrete analyser.

Extreem hoge of lage pH-waarden kunnen de complexvorming storen.

Primaire amines en bestanddelen die hypochloriet reduceren kunnen de bepaling storen, maar deze zijn zelden in storende concentraties aanwezig.

2.3. REAGENTIA

Salpeterzuuroplossing, 0.4%

Voeg in een maatkolf van 1 L met een pipet voorzichtig 4 mL geconcentreerd salpeterzuur toe. Leng aan met water tot de maatstreep.

Natriumsalicylaatoplossing (reagens NH₄-1)

Los in een maatkolf van 250 mL 32.5 g natriumsalicylaat (C₇H₅O₃Na) en 32.5 g natriumcitraat (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O) op in ca. 200 mL water, zorg ervoor dat de pH lager is dan 8, zonodig aanzuren met salpeterzuur. Voeg 0.245 g natriumnitroprusside (Na₂(Fe(CN)₅NO)·2H₂O) toe en los op. Vul aan tot de maatstreep met water.

DIC-oplossing (reagens NH₄-2)

Los in een maatkolf van 250 mL 8.0 g natriumhydroxide op in ca. 200 mL water en meng, laat afkoelen en voeg 0.5 g natriumdichloorisocyanuraat ($\text{Cl}_2\text{Na}(\text{NCO})_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) toe en los op. Vul aan tot de maatstreep met water.

Natriumhydroxiden (ammonium in zuur medium)

Los in een maatkolf van 100 mL 8.0 g natriumhydroxide op. Vul aan tot de maatsreep met water.

Verduunningswater (ammonium in zuur medium)

Voeg in een maatkolf van 1000 mL voorzichtig 2.8 mL geconcentreerd zwavelzuur toe. Leng aan tot de maatstreep met water.

Opmerking:

Als blanco wordt bij de bepaling van NH_4 in zuur medium 0.1N zwavelzuur en in KCl medium 1M KCl gebruikt i.p.v. ultrapuur water.

2.4. RESULTATEN AMMONIUM IN STANDAARDOPLOSSINGEN AANGEMAAKT IN NEUTRAAL MEDIUM, 1M KCl EN IN 0.1N H_2SO_4

De validatie van ammonium werd uitgevoerd op standaardoplossingen aangemaakt in neutraal medium, 1M KCl en in 0.1N H_2SO_4 .

Voor de validatie van de procedure werden steeds 3 onafhankelijke controlestandaarden gebruikt. De eerste standaard ligt op het laagste ijkpunt (=QC 1), de tweede op $\frac{1}{4}$ (= QC 2) en de derde op $\frac{3}{4}$ (=QC 3) van het ijkgebied.

Deze drie standaarden werden 10 keer per dag gemeten om hieruit de herhaalbaarheid te berekenen, en dit op 5 verschillende dagen, om hieruit de reproduceerbaarheid af te leiden.

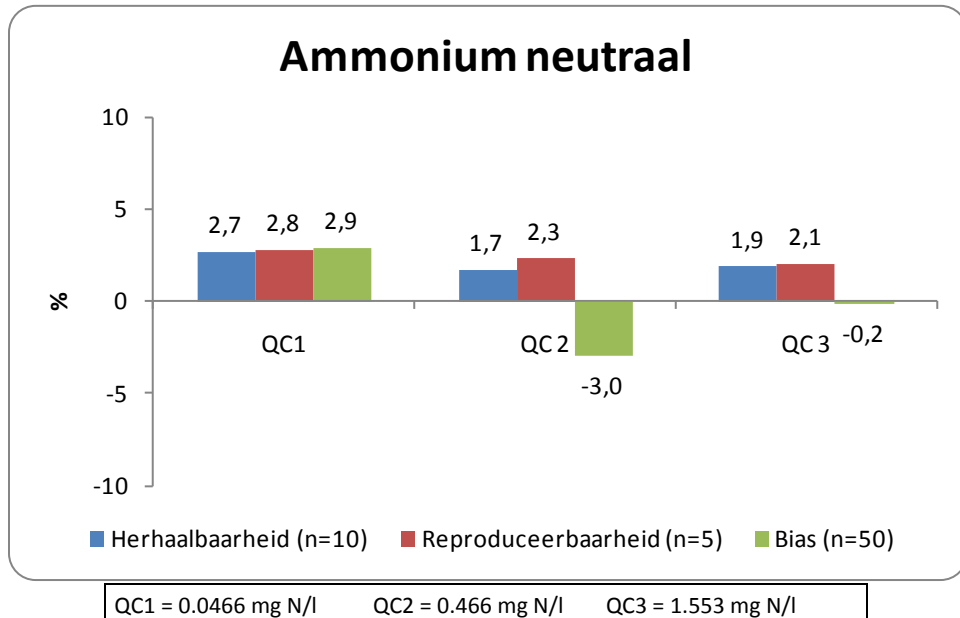
Uit de resultaten van de verschillende metingen ($n=50$) kon de juistheid berekend worden.

De prestatiekenmerken voor de bepaling van ammonium in neutraal medium, in 1 M KCl en in zuur (0.1 N H_2SO_4) medium water zijn weergegeven in Tabel 2.

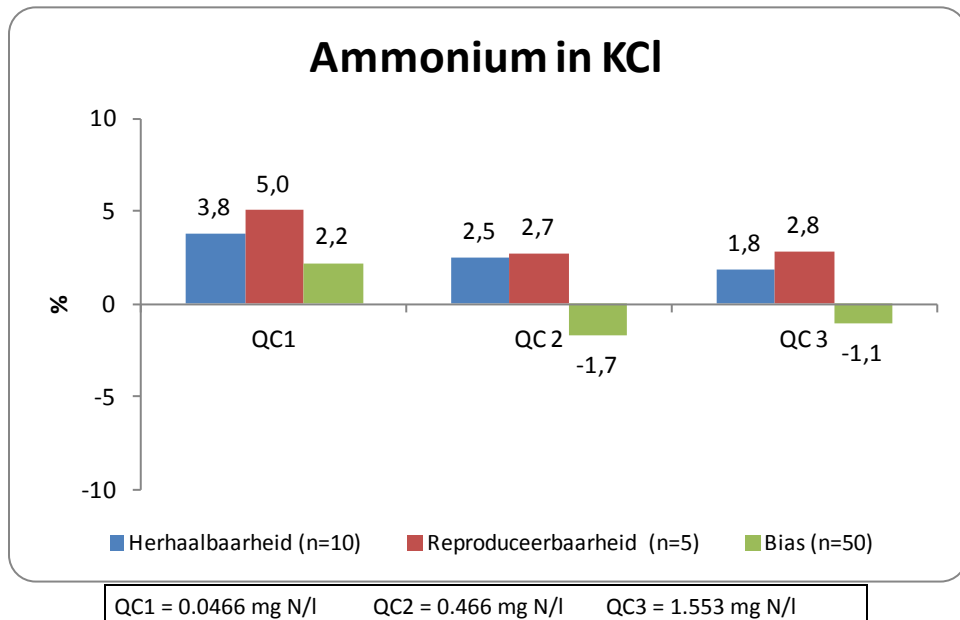
Tabel 2 Prestatiekenmerken voor de parameter NH_4 in de standaardoplossingen

Parameter		NH_4 neutraal	NH_4 KCl	NH_4 zuur
Meetgebied	mg N/l	0.05 – 2.00	0.1 – 2.00	0.05 – 2.00
Lineariteit		Lineair	Lineair	Lineair
Aantoonbaarheidsgrens	mg N/l	0.006	0.016	0.009
Bepalingsgrens	mg N/l	0.013	0.032	0.017
Herhaalbaarheid (QC2)	%	1.7	2.5	1.7
Reproduceerbaarheid (QC2)	%	2.3	2.7	5.4
Juistheid (bias) (QC2)	%	-3.0	-1.7	-3.0
Meetonzekerheid (QC2)	%	7.6	7.1	14

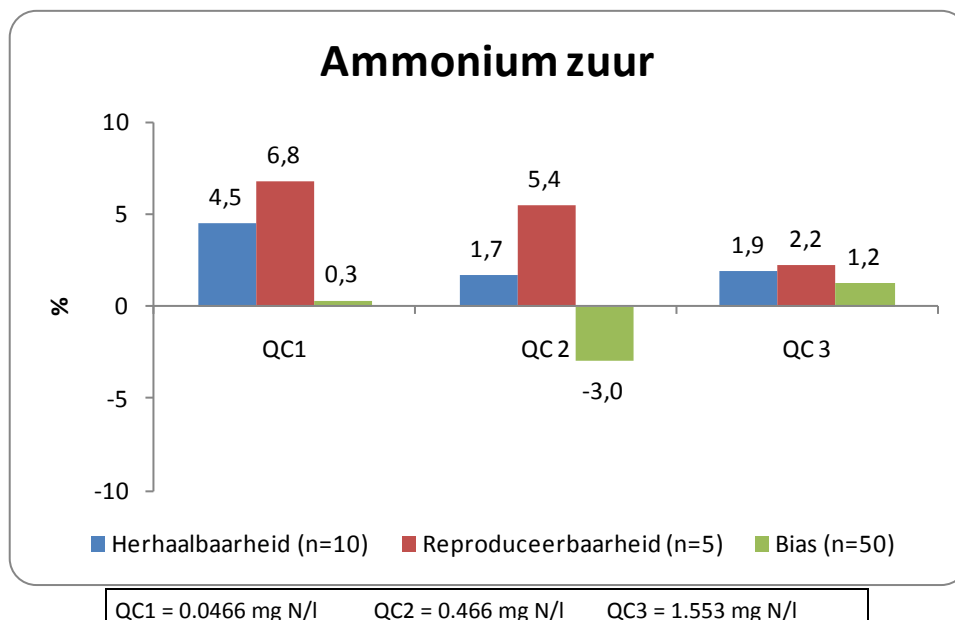
In Figuur 4 is de herhaalbaarheid, de reproduceerbaarheid en de juistheid van de 3 onafhankelijke QCs weergegeven voor de parameter NH_4 (neutraal medium). In Figuur 5 en Figuur 6 zijn deze prestatiekenmerken weergegeven voor de parameter ammonium in 1M KCl en in zuur medium (0.1N H_2SO_4), respectievelijk.



Figuur 4 Prestatiekenmerken voor de parameter NH_4 (in neutraal medium)



Figuur 5 Prestatiekenmerken voor de parameter NH_4 (in 1M KCl)



Figuur 6 Prestatiekenmerken voor de parameter NH_4 in $0.1\text{N H}_2\text{SO}_4$ medium

2.5. RESULTATEN AMMONIUM IN KCl EXTRACT VAN BODEMMONSTERS

Ammonium wordt bepaald in KCl extracten van bodemmonsters (BAM/deel 2/07).

De validatie van de parameter ammonium in KCl extracten van bodems met de discrete analyser werd uitgevoerd op gedopeerde extracten van reële bodemmonsters. Hiervoor werden KCl extracties uitgevoerd van verschillende bodemmonsters. De KCl extracten werden voorzien van verschillende concentraties aan ammonium. Alle analyses zijn uitgevoerd in duplo gebruikmakend van 2 verschillende ijklijnen. In Tabel 3 zijn de meetresultaten (1^{ste} meetreeks) getoond van de originele extracten alsook van de gedopeerde extracten en de bekomen rendementen van de dopering.

Tabel 3 Resultaten en rendement van ammonium in KCl extracten van bodems

Code	Monster mg N/l	Monster + spike mg N/l	Spike mg N/l	Rendement %
20104070	0,179	0,278	0,099	99
20104437	0,163	0,379	0,248	87
20104553	0,134	0,629	0,497	100
20102945	0,107	1,044	0,994	94
20102923	0,197	1,635	1,497	96
20102929	0,166	0,655	0,497	99

Uit de duplo analyseresultaten van de gedopeerde extracten (n=6) werd de procentuele variatiecoëfficiënt (CV_R) berekend. Deze bedraagt 3.4%. De juistheid van de methode werd afgeleid uit de verschillende doperingen met een rendement tussen 87 en 100%.

2.6. RESULTATEN AMMONIUM IN KCl EXTRACT VAN VASTE DIERLIJKE MESTMONSTERS

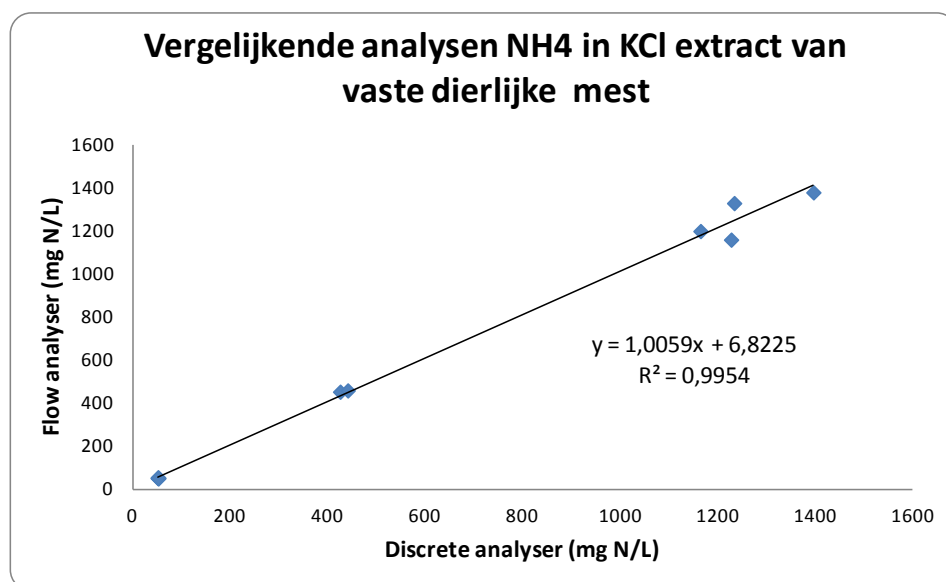
Ammonium wordt bepaald in KCl extracten van vaste dierlijke mestmonsters na droging met wijnsteenzuur (BAM/deel 4/05).

De validatie van de parameter ammonium in KCl extracten van mestmonsters met de discrete analyser werd uitgevoerd op KCl extracten van 6 verschillende vaste dierlijke mestmonsters. Alle mestmonsters werden in duplo geëxtraheerd, vervolgens werden alle extracten in duplo geanalyseerd met de discrete analyser gebruikmakend van 2 verschillende ijklijnen. Daarnaast werd het ammonium gehalte in alle extracten met de doorstroomanalyse methode (= referentiemethode) bepaald.

Bij de discrete analyser werden de monsters met een hoge concentratie aan ammonium (range 400 – 1400 mg N/L) 100 x verdund ingezet in de carroussel; het meetsysteem heeft een verdere verdunning uitgevoerd totdat het meetresultaat gesitueerd is in het meetgebied tussen 0.1 en 2.0 mg N/L.

De monsters met een concentratie rond 50 mg N/L werden 50 x verdund ingezet in de carroussel. Aan de 50x verdunde monsters werd bijkomend ammonium gedopeerd op verschillende concentratieniveaus.

De resultaten bekomen met de discrete analyser werden vergeleken met de resultaten bekomen met de doorstroomanalyse methode en zijn weergegeven in Figuur 7. De resultaten tussen de 2 verschillende technieken zijn goed in overeenstemming.



Figuur 7 Vergelijkende metingen (n=12) van ammonium in KCl extracten van vaste dierlijke mest

Uit de duplo analyseresultaten (n=12) werd de procentuele variatiecoëfficiënt (CV_R) berekend. Deze bedraagt 3.6%.

In Tabel 4 zijn de meetresultaten (1^{ste} meetreeks) getoond van de originele extracten alsook van de gedopeerde extracten en de bekomen rendementen van de dopering. Deze rendementen zijn gelegen tussen 94 en 102%.

Tabel 4 Resultaten en rendementen van ammonium in KCl extracten van mestmonsters

Code	Monster mg N/L	Monster + spike mg N/L	Spike* mg N/L	Rendement %
20112484/1	53,1	62,6	0,2	94
20112484/2	54,0	69,4	0,3	102
20112485/1	54,0	73,2	0,4	96
20112485/2	53,6	77,9	0,5	97
20112486/1	52,6	81,4	0,6	96
20112486/2	56,1	90,0	0,7	97

* Spike werd toegevoegd aan het 50 x verdunde monster

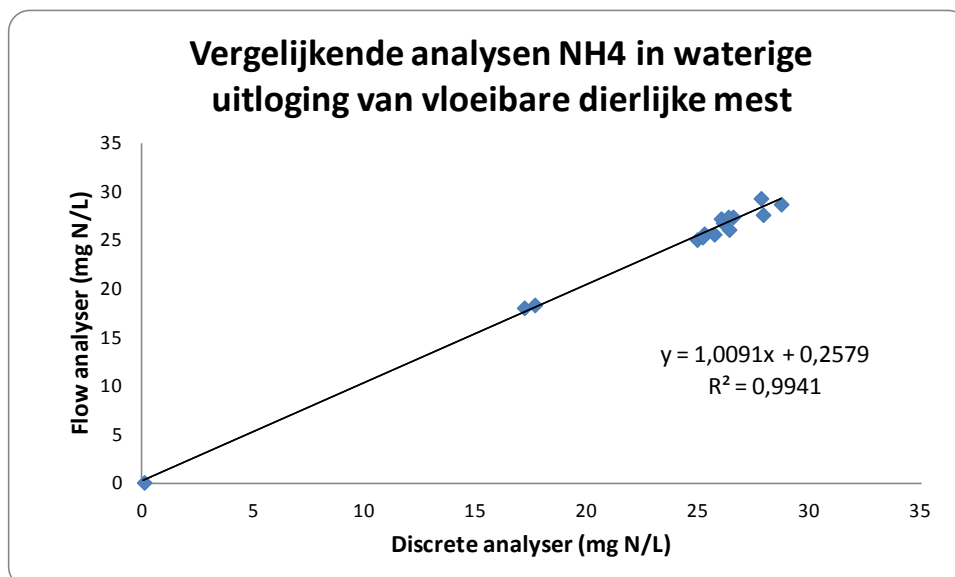
2.7. RESULTATEN AMMONIUM IN WATERIG EXTRACT VAN VLOEIBARE DIERLIJKE MESTMONSTERS

Ammonium wordt bepaald in waterige extracten van vloeibare dierlijke mestmonsters (BAM/deel 4/05). Het monster wordt uitgelooft in water (1:100 m:V), gecentrigereerd en/of gefiltreerd. Het ammonium gehalte wordt in het filtraat bepaald.

De validatie van de parameter ammonium in waterige extracten van mestmonsters met de discrete analyser werd uitgevoerd op 7 verschillende vloeibare dierlijke mestmonsters. Alle mestmonsters werden in duplo geëxtraheerd, vervolgens werden alle extracten in duplo geanalyseerd met de discrete analyser gebruikmakend van 2 verschillende ijklijnen. Daarnaast werd het ammonium gehalte in alle extracten met de doorstroomanalysemethode (= referentiemethode) bepaald.

Bij de discrete analyser werden alle monsters automatisch verdund door het meetsysteem.

De resultaten bekomen met de discrete analyser werden vergeleken met de resultaten bekomen met de doorstroomanalysemethode en zijn weergegeven in Figuur 8. De resultaten tussen de 2 verschillende technieken zijn goed in overeenstemming.



Figuur 8 Vergelijkende metingen (n=15) van ammonium in extracten van vloeibare dierlijke mest

Uit de duplo analyseresultaten (n=15) werd de procentuele variatiecoëfficiënt (CV_R) berekend. Deze bedraagt 2.4%.

Een aantal monsters werd gedopeerd met ammonium. Hiervoor werden een aantal waterige extracten 25x verdund en gedopeerd met verschillende concentratieniveaus aan ammonium.

In Tabel 5 zijn de meetresultaten (1^{ste} meetreeks) getoond van de originele extracten alsook van de gedopeerde extracten en de bekomen rendementen van de dopering. Deze rendementen zijn gelegen tussen 95 en 105%.

Tabel 5 Resultaten en rendementen van ammonium in extracten van vloeibare mestmonsters

Code	Monster mg N/L	Monster + spike mg N/L	Spike* mg N/L	Rendement %
20112553/1	27,8	32,6	0,2	97
20112553/2	28,7	36,1	0,3	98
20112554/1	26,0	36,1	0,4	101
20112554/2	27,9	39,7	0,5	95
20112555/1	26,5	42,2	0,6	105
20112555/2	26,3	43,2	0,7	96

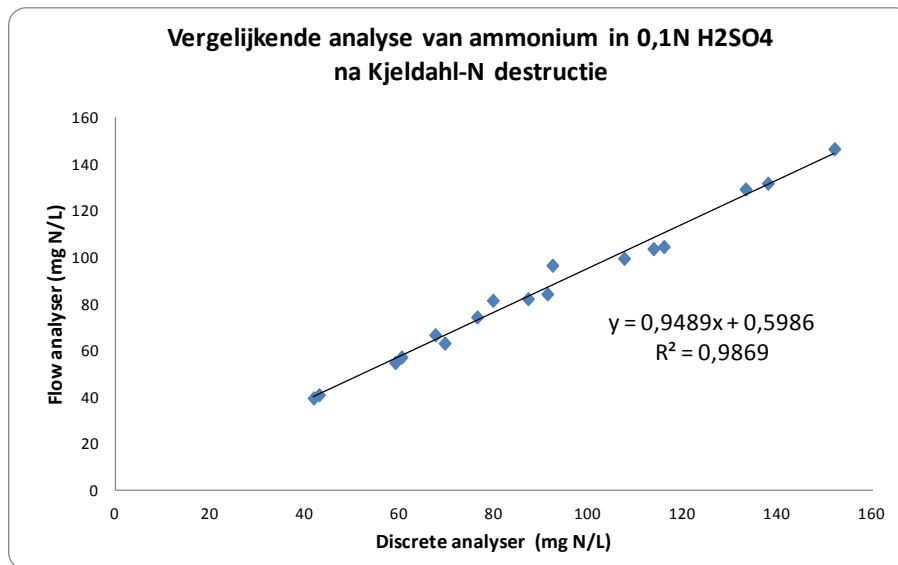
* Spike werd toegevoegd aan het 25 x verdunde monster

2.8. RESULTATEN AMMONIUM IN DESTRUCTIE OPLOSSING VAN VLOEIBARE EN VASTE DIERLIJKE MESTMONSTERS

Ammonium dient bepaald te worden in de destructie oplossingen van de totaal N bepaling (BAM/deel 3/06 en BAM/deel 4/06). Voor deze dierlijke mestmonsters werd de Kjeldahl destructie uitgevoerd en werd het destillaat opgevangen in 0.1N H₂SO₄.

De validatie van de parameter ammonium in de destructie oplossingen werd uitgevoerd op 7 onbehandelde vloeibare dierlijke mestmonsters en op 5 behandelde mestmonsters. Alle mestmonsters werden gedestruëerd volgens de Kjeldahl destructie methode en gedestilleerd. Vervolgens werden alle extracten in duplo geanalyseerd met de discrete analyser gebruikmakend van 2 verschillende ijklijnen. Daarnaast werd het ammonium gehalte in alle extracten met de doorstroomanalyse methode (= referentiemethode) bepaald.

De resultaten bekomen met de discrete analyser (1^{ste} meetreeks) werden vergeleken met de resultaten bekomen met de doorstroomanalyse methode en zijn weergegeven in Figuur 9. De resultaten tussen de 2 verschillende technieken zijn goed in overeenstemming. Bij vergelijking van de data van de 2^{de} meetreeks (discrete analyser) met deze van de doorstroomanalyse methode werd een regressiehelling van 0.9798 bekomen.



Figuur 9 Vergelijkende ammonium metingen (n=17) na Kj-N destructie van mestmonsters

Uit de duplo analyseresultaten (n=17) werd de procentuele variatiecoëfficiënt (CV_R) berekend. Deze bedraagt 2.9%.

2.9. BESLUIT

Bij het op punt stellen van de methode voor de bepaling van ammonium mbv de discreet analyser in de diverse media zijn geen significante problemen vastgesteld. Initieel diende de methode geoptimaliseerd te worden wat betreft de hoeveelheid monster, hoeveelheid reagentia, incubatietijd,... Bij de bepaling van deze parameter in de diverse matrices werd een zeer grote mate van overeenkomst bekomen met de resultaten bekomen met de referentiemethode.

Bij het uitvoeren van deze analyses dienen wel volgende items mee in rekening gebracht te worden:

- Bij bepaling van ammonium in zuur medium dient er op gelet te worden dat alle standaarden (incl. blanco) en verdunningen worden aangemaakt in 0.1N H₂SO₄. Bij bepaling van ammonium in 1M KCl worden alle standaarden (incl. blanco) en verdunningen aangemaakt in 1M KCl.
- De houdbaarheid van de reagentia speelt een belangrijke rol in de juistheid van de analyseresultaten. De validatietesten toonden aan dat de reagentia voor deze parameter maximum 2 dagen mogen gebruikt worden. Wanneer er langer gewerkt wordt met de reagentia daalt de gevoeligheid van de methode significant.
- Bij bepaling van ammonium in KCl is de blanco controle zeer belangrijk. De methode is zeer gevoelig aan contaminatie van ammonium in oa. de reagentiatatjes.

Samengevat kan gesteld worden dat de discreet analyser inzetbaar is voor de bepaling van ammonium in:

- KCl extracten van bodemmonsters
- Waterige extracten van vloeibare dierlijke mest
- KCl extracten van vaste dierlijke mest
- Aangezuurde destructieoplossingen van vaste en vloeibare dierlijke mest

HOOFDSTUK 3. BEPALING VAN NITRIET IN KCL EXTRACTEN

De bepaling van de parameter nitriet werd uitgevoerd volgens de methode beschreven in NEN 6604. In het kader van de analyses voor het Mestdecreet is enkel de bepaling van nitriet in KCl extracten van bodemmonsters relevant.

3.1. PRINCIPE

Nitriet reageert in zuur milieu met sulfanilamide en naphtyleyleendiamine (NED) tot een roodgekleurde diazoverbinding. De extinctie bij 540 nm is een maat voor het nitrietgehalte.

3.2. INTERFERENTIE

Bij analysemonsters met een hoge pH-waarde kan interferentie optreden. Deze interferentie kan worden voorkomen door de monsters vooraf met fosforzuur te neutraliseren. Verder kunnen storingen optreden door amines, chlooramines, thiosulfaat, polyfosfaat, ijzer (III) en oxiderende bestanddelen.

3.3. REAGENTIA

Kleurreagens (reagens NO_2/NO_3)

Voeg in een maatkolf van 1000 mL voorzichtig 50 mL fosforzuur toe aan 500 mL water. Voeg 5.0 g sulfanilamide ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) toe, los op en voeg dan 0.25 g N-naphtylethyleenammoniumchloride ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$) toe. Vul aan tot de maatstreep met water.

Opmerking: alle standaarden, verdunningen en blanco's worden aangemaakt in 1M KCl.

3.4. RESULTATEN NITRIET IN 1M KCL

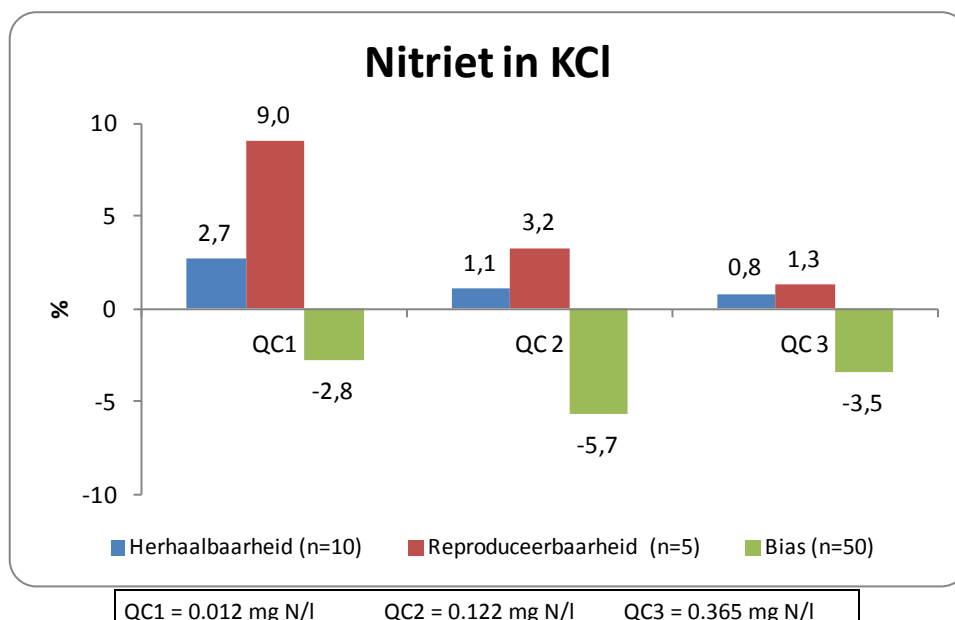
De validatie van nitriet in 1M KCl werd uitgevoerd op standaardoplossingen aangemaakt in 1M KCl. Voor de validatie van de procedure werden steeds 3 onafhankelijke controlestandaarden gebruikt. De eerste standaard ligt op het laagste punt (=QC 1), de tweede op $\frac{1}{4}$ (= QC 2) en de derde op $\frac{3}{4}$ (=QC 3) van het ijkgebied.

Deze drie standaarden werden 10 keer per dag gemeten om hieruit de herhaalbaarheid te berekenen, en dit op 5 verschillende dagen gemeten, om hieruit de reproduceerbaarheid af te leiden. Uit de resultaten van de verschillende metingen (n=50) kan de juistheid berekend worden.

In Tabel 6 vindt u de prestatiekenmerken voor de parameter nitriet in 1M KCl. Figuur 10 geeft grafisch de prestatiekenmerken van nitriet in 1M KCl weer.

Tabel 6 Prestatiekenmerken voor de parameter NO_2 in 1M KCl

Parameter	Nitriet in KCl	
Meetgebied	mg N/l	0,01 - 0,5
Lineariteit		Lineair
Aantoonbaarheidsgrens	mg N/l	0,002
Bepalingsgrens	mg N/l	0,004
Herhaalbaarheid (QC2)	%	1,1
Reproduceerbaarheid (QC2)	%	3,2
Juistheid (bias) (QC2)	%	-5,7
Meeteonzekerheid (QC2)	%	12



Figuur 10 Prestatiekenmerken voor de parameter NO_2 in 1M KCl

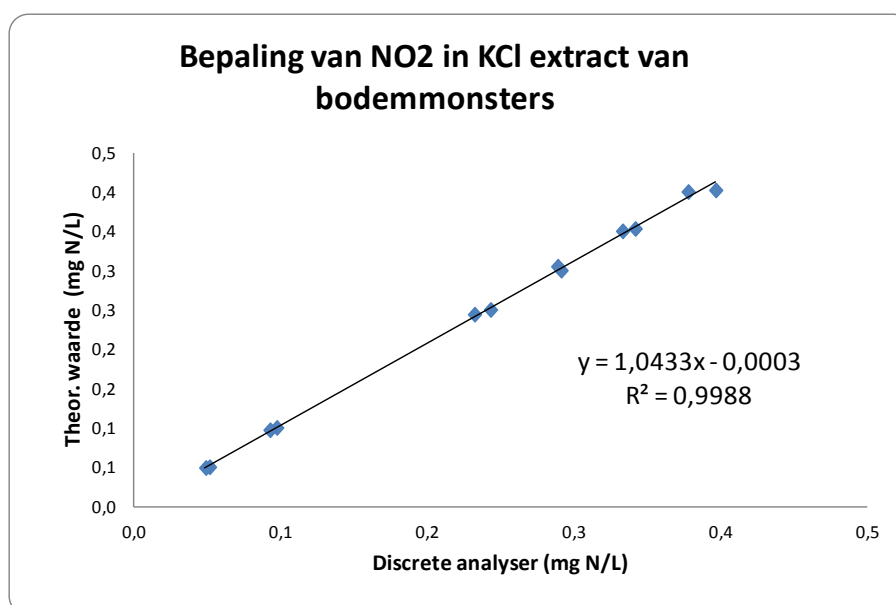
3.5. RESULTATEN NITRIET IN GEDOPEERDE KCl EXTRACTEN VAN REËLE BODEMMONSTERS

De validatie van de parameter nitriet in KCl extracten van bodem werd uitgevoerd op gedopeerde extracten van reële bodemmonsters. Hiervoor werden KCl extracties uitgevoerd van verschillende bodemmonsters. De KCl extracten werden voorzien van verschillende concentraties aan nitriet. In Tabel 7 zijn de bekomen rendementen getoond. De bekomen resultaten zijn grafisch weergegeven in Figuur 11.

Tabel 7 Rendement van de dopering

Code	Spike mg N/L	Resultaat mg N/L	Rendement %
20112491/1	0,05	0,05	101
20112491/2	0,10	0,10	96
20112492/1	0,25	0,24	97
20112493/1	0,30	0,29	97
20112493/2	0,35	0,33	95
20112494/1	0,40	0,38	94
20103945	0,05	0,05	98
20103923	0,09	0,10	95
20104070	0,23	0,24	95
20104271	0,29	0,31	94
20104437	0,34	0,35	97
20104553	0,40	0,40	98

*onverdund geanalyseerd

Figuur 11 Bepaling van NO₂ in gedopeerde KCl extracten van bodems (n=12)

Uit de duplo analyseresultaten (n=12) werd de procentuele variatiecoëfficiënt (CV_R) berekend. Deze bedraagt 2.2%. De juistheid van de methode werd afgeleid uit de verschillende doperingen met een rendement tussen 94 en 101%.

3.6. BESLUIT

Bij het op punt stellen van de methode voor de bepaling van nitriet werden geen significante problemen vastgesteld. De discrete analyser kan ingezet worden voor de bepaling van nitriet in KCl extracten van bodemmonsters.

HOOFDSTUK 4. BEPALING VAN NITRAAT EN NITRIET MET DE HYDRAZINE METHODE

De bepaling van de parameter nitraat en nitriet (TON, totaal geoxideerd stikstof) werd uitgevoerd volgens de methode beschreven in NEN 6604. De bepaling van nitraat en nitriet (TON, totaal oxideerbare N) is relevant voor de bepaling van nitraat in in KCl uitlogingen van bodems, de bepaling van TON in waterige uitlogingen van vloeibare dierlijke mest (digestaten) en de bepaling van TON in KCl uitlogingen van vaste dierlijke mest (digestaten). Het gehalte aan totaal N in dierlijke mest mag immers berekend worden uit de som van Kjeldahl-N en TON.

Voor de validatie werd bijgevolg de bepaling van TON in neutraal medium (water) en in 1M KCl uitgewerkt. Voor de bepaling van TON in neutraal medium werden alle standaarden en verdunningen aangemaakt in ultra puur water, voor de bepaling van TON in KCl werden deze aangemaakt in 1M KCl.

4.1. PRINCIPE

Nitraat wordt met hydrazinesulfaat gereduceerd tot nitriet. Zowel het hierdoor ontstane nitriet als het in het monster aanwezige nitriet reageert vervolgens met sulfanilamide en naphthyleendiamine (NED) tot een rood gekleurde diazoverbinding. De extinctie gemeten bij 520 nmⁱ is een maat voor de aanwezige hoeveelheid nitraat.

Opmerking 1: Met deze methode wordt het gehalte aan TON bepaald. Voor het feitelijke nitraatgehalte behoort voor het nitrietgehalte te worden gecorrigeerd.

Opmerking 2: Nitraat kan ook worden bepaald door het aanwezige nitraat tot nitriet te reduceren met een cadmiumkolom. Deze methode is gevalideerd in HOOFDSTUK 5.

4.2. INTERFERENTIE

Nitriet interfereert bij de bepaling en wordt als nitraat meebepaald. Als het nitrietgehalte bekend is, kan hiervoor worden gecorrigeerd. Ook is het mogelijk nitriet te maskeren met amidozwavelzuur. Sulfide concentraties van 10 mg/l kunnen een afwijking in het gehalte van 10% veroorzaken. Verder zijn er geen interfererende componenten bekend die normaal in watermonsters voorkomen.

4.3. REAGENTIA

Kopersulfaatoplossing

Los in een maatkolf van 100 mL 0.39 g kopersulfaat (CuSO₄·5H₂O) op in 100 mL water.

ⁱ NEN norm: 540 nm – EPA norm: 520 nm – Discrete analyser VITO: 520 nm

Zinksulfaatoplossing

Los in een maatkolf van 100 ml 4.5 g zinksulfaat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) op in 100 mL water.

Natriumhydroxide-oplossing (reagens TON-1)

Los in een maatkolf van 100 mL 0.8 g natriumhydroxide (NaOH) op in 100 mL water.

Reductie-oplossing (reagens TON-2)

Los in een maatkolf van 250 mL 0.1625 g hydrazinesulfaat ($\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$) op in ca. 200 ml water. Voeg 0.375 ml kopersulfaatoplossing en 2.5 ml zinksulfaatoplossing toe en vul aan tot de maatstreep met water.

De optimale hydrazineconcentratie van de reductie-oplossing kan per partij verschillen en moet worden bepaald bij het in gebruik nemen van een nieuwe partij.

Bepaal het reductierendement door het analyseren van een nitraat- en een nitrietoplossing met een gelijke concentratie N, die ligt op ca. 50% van het $\text{NO}_3\text{-N}$ -meetbereik. Deze oplossingen zouden dezelfde absorptie moeten geven. Als de absorptie van de nitraatoplossing lager is dan die van de nitrietoplossing, dan is de omzetting van nitraat niet volledig. Het hydrazinegehalte moet worden verhoogd tot een gelijke absorptie wordt verkregen.

Als de absorptie van de nitraatoplossing hoger is dan de nitrietoplossing, moet het hydrazinegehalte worden verlaagd tot een gelijke absorptie wordt verkregen.

Kleurreagens (reagens NO_2/NO_3)

Voeg in een maatkolf van 1 L voorzichtig 50 ml fosforzuur toe aan 500 mL water. Voeg 5.0 g sulfanilamide ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) toe, los op en voeg dan 0.25 g N-naphtylethyleenammoniumchloride ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$) toe. Vul aan tot de maatstreep met water.

4.4. RESULTATEN TON MET HYRAZINE IN WATER

De validatie van TON met de hydrazinemethode in water werd uitgevoerd met standaardoplossingen. Voor de validatie van de procedure werden steeds 3 onafhankelijke controlestandaarden gebruikt. De eerste standaard ligt op het laagste punt (=QC 1), de tweede op $\frac{1}{4}$ (= QC 2) en de derde op $\frac{3}{4}$ (=QC 3) van het ijkgebied.

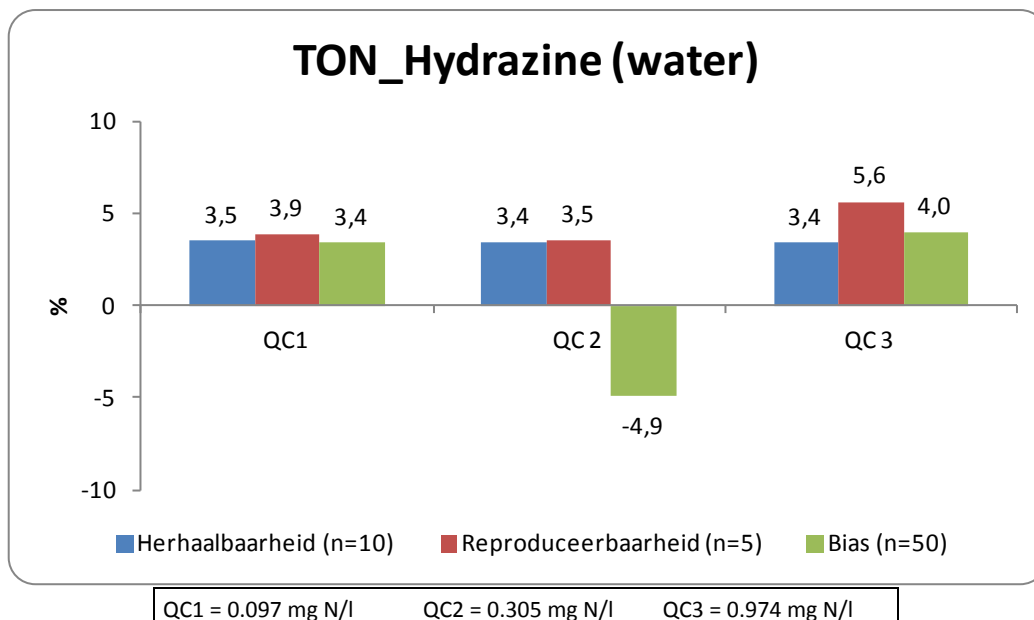
Deze drie standaarden werden 10 keer per dag gemeten om hieruit de herhaalbaarheid te berekenen, en dit op 5 verschillende dagen gemeten, om hieruit de reproduceerbaarheid af te leiden. Uit de resultaten van de verschillende metingen ($n=50$) kan de juistheid berekend worden.

Bij de controle van de ijklijn dient ook steeds het reductierendement van de reductie-oplossing geverifieerd te worden. In deze studie werd een controle oplossing van 0.625 mg N/L nitraat en een controle oplossing van 0.625 mg N/L nitriet gebruikt. De % verhouding nitraat/nitriet dient steeds hoger te zijn dan 90%.

In Tabel 8 vindt u de prestatiekenmerken voor de parameter TON met de hydrazinemethode in water. Figuur 12 geeft grafisch de prestatiekenmerken van TON met de hydrazinemethode weer.

Tabel 8 Prestatiekenmerken voor de parameter TON met hydrazine in water

Parameter	TON met hydrazine in water	
Meetgebied	mg N/l	0,1 - 1,25
Lineariteit		Lineair
Aantoonbaarheidsgrens	mg N/l	0,013
Bepalingsgrens	mg N/l	0,026
Herhaalbaarheid (QC2)	%	3,4
Reproduceerbaarheid (QC2)	%	3,5
Juistheid (bias) (QC2)	%	-4,9
Meetonzekerheid (QC2)	%	12



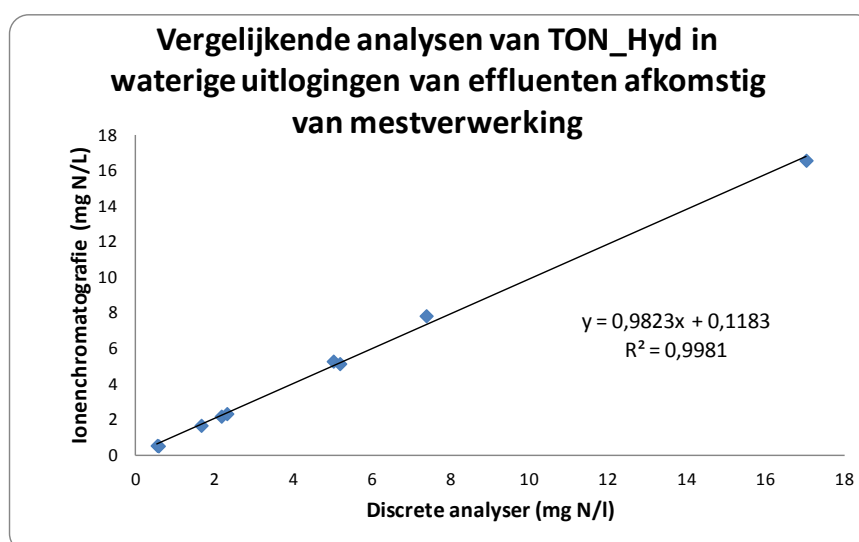
Figuur 12 Prestatiekenmerken voor de parameter TON - hydrazinemethode in water

4.5. RESULTATEN TON MET HYRAZINE IN WATERIGE EXTRACTEN VAN EFFLUENTEN AFKOMSTIG VAN MESTVERWERKING EN VLOEIBARE DIERLIJKE DIGESTATEN

TON kan bepaald worden in waterige extracten van *effluenten* afkomstig van mestverwerking (als bijdrage bij totaal N). Het monster wordt uitgelooft in water (1:100 m:V), gecentrifugeerd en/of gefiltreerd. Het TON gehalte wordt in het filtraat bepaald.

De validatie van de parameter TON in waterige extracten van effluenten met de discrete analyser werd uitgevoerd op 3 verschillende effluenten afkomstig van de mestverwerking. De monsters werden als dusdanig gemeten en na dopering. Alle monsters werden in duplo geëxtraheerd en in duplo geanalyseerd met de discrete analyser gebruikmakend van 2 verschillende ijklijnen. Daarnaast werd het nitraat en nitrietgehalte in alle extracten met ionenchromatografie (= referentiemethode) bepaald.

De resultaten bekomen met de discrete analyser werden vergeleken met de resultaten bekomen met ionenchromatografie en zijn weergegeven in Figuur 13. De resultaten tussen de 2 verschillende technieken zijn goed in overeenstemming.



Figuur 13 Vergelijkende analyses ($n=9$) van TON (Hydrazine) in waterige uitlogingen van effluënten

Uit de duplo analyseresultaten ($n=9$) werd de procentuele variatiecoëfficiënt (CV_R) berekend. Deze bedraagt 5.2%.

In Tabel 9 zijn de meetresultaten (1^{ste} meetreeks) getoond van de originele extracten alsook van de gedopeerde extracten en de bekomen rendementen van de dopering. Deze rendementen zijn gelegen tussen 92 en 106%.

Tabel 9 Resultaten van TON (Hydrazine) in waterige uitloging van effluënten

Vitonr	Verdunning	Monster mg N/L	Monster + spike mg N/L	Spike mg N/L	Rendement %
20115632/A	5	2,16	7,36	1,13	92
20115633/A	1	0,54	1,65	1,13	99
20115634/A	10	5,00	17,0	1,13	106

Bij de analyse van *vloeibare dierlijke digestaten* voor de bepaling van TON werden er wel problemen vastgesteld. Een aantal vloeibare dierlijke digestaten werden, met en zonder dopering van ammonium, geanalyseerd. De bekomen resultaten tonen aan dat de matrixeffecten een belangrijke rol kunnen spelen in het uiteindelijke analyseresultaat. De juistheid van de bekomen resultaten is zeer monsterafhankelijk. In Tabel 10 zijn de resultaten van gedopeerde monsters getoond. Omwille van de aanwezige matrix is het bekomen resultaat van monster 20113457 niet betrouwbaar. Bij al deze monsters was het TON gehalte zeer laag waardoor matrixeffecten niet kunnen gereduceerd worden door het monster te verdunnen.

De toepasbaarheid van de discrete analyser voor de bepaling van TON met de hydrazinemethode in waterige uitlogingen van vloeibare dierlijke digestaten zal enkel mogelijk zijn indien de concentratie van het monster voldoende hoog is. Bij deze monsters kunnen de aanwezige matrixeffecten gereduceerd worden door het monster sterk te verdunnen.

Indien de discrete analyser is uitgerust met een flowcel, is bij deze monstertypes de kans op contaminatie van het meetsysteem groter.

Analyse van deze monstertypes met een doorstroomanalysestelsel is aan te bevelen omdat door de aanwezigheid van een dialysemembraan storende componenten worden verwijderd.

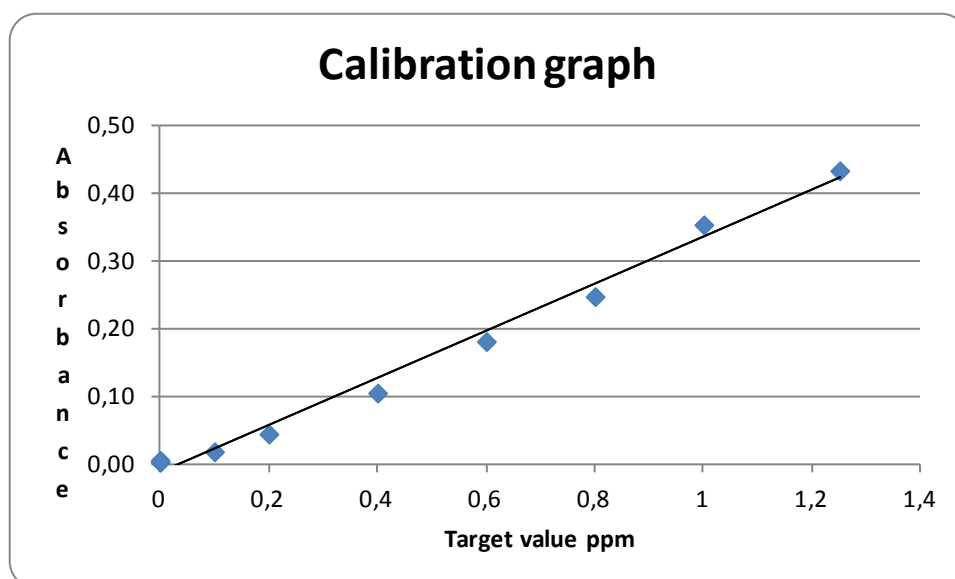
Tabel 10 Resultaten van TON (Hydrazine) in waterige uitloging van vloeibare digestaten

Vitonr	Beschrijving	Monster mg N/L	Monster + spike mg N/L	Spike mg N/L	Rendement %
20113455	Lichtgeel, helder	1,41	1,90	0,45	109
20113456	Donkerbruin	0,69	1,13	0,45	96
20113457	Donkerbruin	1,17	0,87	0,45	-67

*Alle monsters werden overdund geanalyseerd

4.6. RESULTATEN TON MET HYRAZINE IN 1M KCl

Bij het op punt stellen van de methode voor de bepaling van TON met de hydrazinemethode in 1M KCl treden er problemen op. Bij het opstellen van de kalibratielijnen tussen 0.1 en 1.25 mg N/L werden correlatiecoëfficiënten bekomen tussen 0.9952 en 0.9982 (Figuur 14). Bij het meten van de 3 onafhankelijke controlestandaarden werd vastgesteld dat de bekomen afwijkingen tov de theoretische waarde hoog liggen. Zowel voor de eerste standaard i.e. op het laagste meetpunt (=QC 1), de tweede op $\frac{1}{4}$ (= QC 2) als de derde op $\frac{3}{4}$ (=QC 3) van het ijkgebied, werden hoge afwijkingen van zelfs 20 à 25% vastgesteld. De afwijkingen werden zowel bij de nitraat als de nitriet standaard waargenomen.



Figuur 14 Voorbeeld kalibratie voor TON hydrazinemethode in 1M KCl

Bij evaluatie van de kalibratielijijn (Figuur 14) wordt vastgesteld dat voor de laagste kalibratiepunten (< 0.4 mg N/L) de regressie niet meer lineair verloopt. Herberekening van de kalibratielijijn tussen 0.4 en 1.25 mg N/L resulteert in een vergelijkbare correlatiecoëfficiënt. De onafhankelijke controle voor zowel nitriet als nitraat is nu wel in overeenstemming met de theoretische waarde zoals weergegeven in Tabel 11.

Tabel 11 Resultaten onafhankelijke controlestandaarden voor TON-hydrazinemethode in 1M KCl

Controlestandaard	Gemeten conc. mg N/L	Theoretische conc. mg N/L	Bias %
QC3 NO3	0,886	0,9036	-1,9
QC3 NO3	0,883	0,9036	-2,3
QC3 NO2	0,944	0,9744	-3,2
QC3 NO2	0,975	0,9744	0,03
NO3 0,625	0,595	0,625	-4,8
NO3 0,625	0,573	0,625	-8,3
NO2 0,625	0,596	0,625	-4,7
NO2 0,625	0,557	0,625	-11

Momenteel zijn nog geen eisen van rapportagegrenzen gedefinieerd. Afhankelijk van de toetsen normwaarde dient bekeken te worden of een rapportagegrens van 0.4 mg N/L voldoet .

Op basis van deze resultaten kan de hydrazine methode voor de bepaling van TON in KCl niet als analysemethode aanbevolen worden.

Gezien het beperkte meetgebied en hogere rapporteergrens voor TON in 1M KCl, werd de methode niet verder gevalideerd voor KCl uitlogingen van bodemonsters en vaste dierlijke mest.

4.7. BESLUIT

Bij het op punt stellen van de methode voor de bepaling van TON in water zijn er geen significante problemen vastgesteld. Initieel diende de methode wel geoptimaliseerd te worden wat betreft de hoeveelheid monster, hoeveelheid reagentia, incubatietijd,...

Bij bepaling van TON in waterige uitlogingen van effluënten en vloeibare dierlijke mest heeft de matrix een invloed op het uiteindelijke analyseresultaat. Indien het TON voldoende hoog, kunnen de monsters verdund worden en kan op deze manier de invloed van de matrix gereduceerd worden.

Op basis van de uitgevoerde validatie kan gesteld worden dat deze methode kan toegepast worden voor de analyse van effluënten van de mestverwerking. Voor de analyse van vloeibare dierlijke digestaten is de methode niet aan te bevelen omwille van sterke matrixeffecten.

Op basis van de bekomen resultaten kan de hydrazine methode voor de bepaling van TON in KCl medium niet als analysemethode aanbevolen worden gezien de te lage gevoeligheid. Bij toepassing van deze methode is het belangrijk dat een grondige validatiestudie wordt uitgevoerd die aantoont dat de methode voldoet aan de vereiste prestatiekenmerken en voornamelijk aan de vereiste rapporteergrens.

Bij het uitvoeren van deze analyses dienen wel volgende items mee in rekening gebracht te worden:

- De hydrazine oplossing dient minstens twee dagen voor gebruik te worden aangemaakt.
- De hydrazine oplossing dient op kamertemperatuur gebracht te worden voor gebruik.
- De houdbaarheid van de hydrazine oplossing is beperkt tot 1 week ipv 2 weken.

- Bij bepaling van TON in KCl is de blanco controle zeer belangrijk. De methode is zeer gevoelig aan contaminatie van TON in oa. de reagentiatjes.

Samengevat kan gesteld worden dat de discreet analyser:

- Inzetbaar is voor de bepaling van TON in effluenten
- Beperkt inzetbaar is voor de bepaling van TON in 1M KCl (omwille van beperkte gevoeligheid)
- Niet inzetbaar is voor de bepaling van TON in waterige extracten van vloeibare dierlijke mest omwille van sterke matrixeffecten.

HOOFDSTUK 5. BEPALING VAN NITRAAT EN NITRIET MET EEN CADMIUMKOLOM

De bepaling van nitraat en nitriet met een cadmiumkolom is niet beschreven in NEN 6604, wel is aangegeven dat deze methodiek eveneens mogelijk is. Deze methode is wel beschreven in EPA method EPA-127-A Rev. 5⁴ en deze procedure werd toegepast voor de bepaling van nitraat en nitriet met een cadmiumkolom.

De bepaling van nitraat en nitriet (TON, totaal oxideerbare N) is relevant voor de bepaling van nitraat in in KCl uitlogingen van bodems, de bepaling van TON in waterige uitlogingen van vloeibare dierlijke mest (digestaten) en de bepaling van TON in KCl uitlogingen van vaste dierlijke mest (digestaten). Het gehalte aan totaal N in dierlijke mest mag immers berekend worden uit de som van Kjeldahl-N en TON.

Voor de validatie werd bijgevolg de bepaling van TON in neutraal medium (water) en in 1M KCl uitgewerkt. Voor de bepaling van TON in neutraal medium werden alle standaarden en verdunningen aangemaakt in ultra puur water, voor de bepaling van TON in KCl werden deze aangemaakt in 1M KCl.

5.1. PRINCIPE

Nitraat wordt gereduceerd door een cadmium-koperreductor tot nitriet. Zowel het hierdoor ontstane nitriet als het in het monster aanwezige nitriet reageert vervolgens met sulfanilamide en naphthyleendiamine (NED) tot een rood gekleurde diazoverbinding. De extinctie gemeten bij 520 nm is een maat voor de aanwezige hoeveelheid nitraat.

Opmerking 1: Met deze methode wordt het gehalte aan TON bepaald. Voor het feitelijke nitraatgehalte behoort voor het nitrietgehalte te worden gecorrigeerd.

Opmerking 2: Nitraat kan ook worden bepaald door het aanwezige nitraat tot nitriet te reduceren met hydrazinesulfaat. Deze methode is gevalideerd in HOOFDSTUK 4.

5.2. INTERFERENTIE

Hoge concentraties aan ijzer, koper en andere metalen kunnen leiden tot onderschatting van het nitraat en nitriet gehalte. EDTA wordt toegevoegd aan de reagentia om deze interferentie te elimineren.

Monsters die olie en vet bevatten, kunnen de cadmiumkolom beschadigen. Pré-extractie met een organisch solvent kan deze interferentie elimineren.

Residuele chloor kan leiden tot een negatieve interferentie door een daling van de reductie efficiëntie. Indien nodig, natriumthiosulfaat toevoegen voor dechlorinatie.

5.3. REAGENTIA

Kopersulfaat, 2%

Los 20 g kopersulfaat, vochtvrij (CuSO_4) of 31.3 g kopersulfaat, pentahydraat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) op in 1000 mL water.

Ammoniumchloridebuffer

Los 240 g ammoniumchloride (NH_4Cl) en 2.5 g $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ op in 800 ml water. pH aanpassen tot pH 8.5 met geconcentreerd ammoniumhydroxide en aanlengen met water tot 1000 ml.

Werkbuffer met 0.04% detergent

Voeg 0.4 ml 10% (w/v) Triton® X-100 oplossing toe aan 100 ml ammoniumchloridebuffer.

Kleurreagens (reagens NO_2/NO_3)ⁱⁱ

Voeg in een maatkolf van 1 L voorzichtig 50 ml fosforzuur toe aan 500 mL water. Voeg 5.0 g sulfanilamide ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) toe, los op en voeg dan 0.25 g N-naphthylethyleenammoniumchloride ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$) toe. Vul aan tot de maatstreep met water.

Cadmium reductiekolom

De reductie efficiëntie van de cadmium reductiekolom dient dagelijks gecontroleerd te worden. Indien de gemeten waarde voor nitraat-N kleiner is dan 90% van de gemeten nitriet-N-waarde moeten de cadmium kolom geregenereerd worden.

De regeneratie van de cadmium kolom kan automatisch door het meetsysteem worden uitgevoerd en bestaat uit 2 behandelingen met 2% CuSO_4 , 5 behandelingen met een hoge nitraatstandaard gemengd met pH 8.5 werkbuffer. Deze cyclus herhalen tot een reductie efficiëntie van nitraat wordt bekomen van minimaal 90%.

5.4. RESULTATEN TON MET CD KOLOM IN WATER

De validatie van TON (nitraat + nitriet) in water werd uitgevoerd op standaardoplossingen.

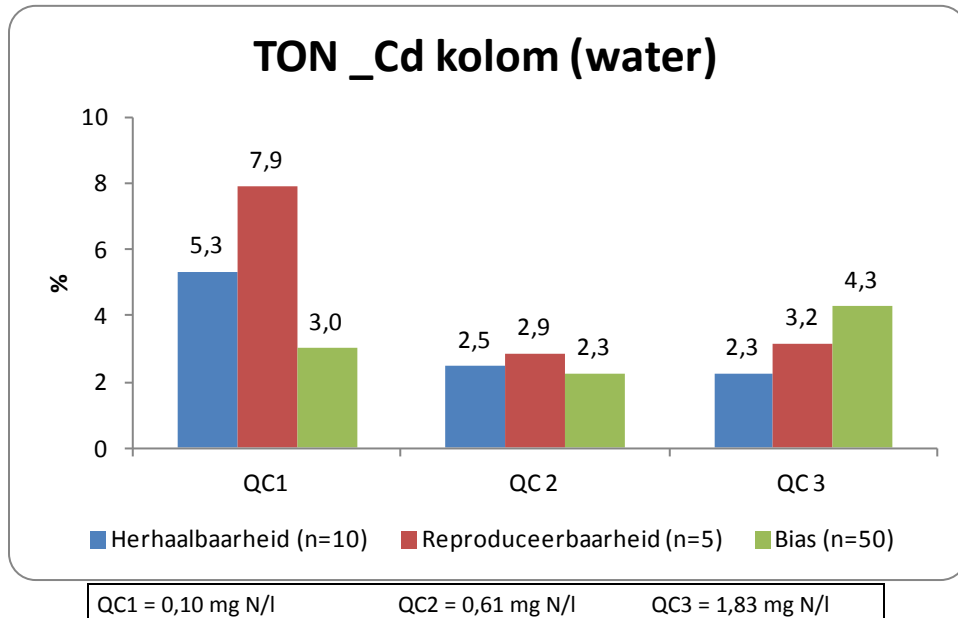
Voor de validatie van de procedure werden steeds 3 onafhankelijke controlestandaarden gebruikt. De eerste standaard ligt op het laagste punt (=QC 1), de tweede op $\frac{1}{4}$ (= QC 2) en de derde op $\frac{3}{4}$ (=QC 3) van het ijkgebied.

Deze drie standaarden werden 10 keer per dag gemeten om hieruit de herhaalbaarheid te berekenen, en dit op 5 verschillende dagen gemeten, om hieruit de reproduceerbaarheid af te leiden. Uit de resultaten van de verschillende metingen (n=50) kon de juistheid berekend worden. Tabel 12 en Figuur 15 geven de prestatiekenmerken voor de parameter TON in ultra puur water weer.

Tabel 12 Prestatiekenmerken voor de parameter TON- Cd kolom in water

Parameter	TON water – Cd kolom	
Meetgebied	mg N/l	0,1 - 2,5
Lineariteit		Lineair
Aantoonbaarheidsgrens	mg N/l	0,315
Bepalingsgrens	mg N/l	0,053
Herhaalbaarheid (QC2)	%	2,5
Reproduceerbaarheid (QC2)	%	2,9
Juistheid (bias) (QC2)	%	2,3
Meetonzekerheid (QC2)	%	8,0

ⁱⁱ Kleurreagens: cfr NEN 6604 – methode voor de bepaling van TON met hydrazine



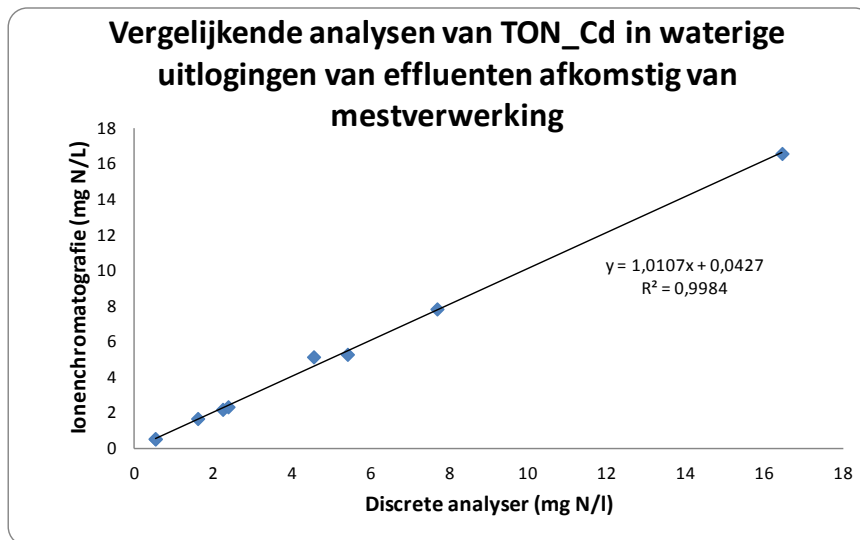
Figuur 15 Prestatiekenmerken voor de parameter TON-Cd kolom in water

5.5. RESULTATEN TON MET Cd KOLOM IN WATERIGE EXTRACTEN VAN EFFLUENTEN AFKOMSTIG VAN MESTVERWERKING EN VLOEIBARE DIERLIJKE DIGESTATEN

TON kan bepaald worden in waterige extracten van *effluënten* afkomstig van mestverwerking (als bijdrage bij totaal N). Het monster wordt uitgeloozd in water (1:100 m:V), gecentrifugeerd en/of gefiltreerd. Het TON gehalte wordt in het filtraat bepaald.

De validatie van de parameter TON in waterige extracten van effluënten met de discrete analyser werd uitgevoerd op 3 verschillende effluënten afkomstig van de mestverwerking. De monsters werden als dusdanig gemeten en na dopering. Alle monsters werden in duplo geëxtraheerd en in duplo geanalyseerd met de discrete analyser gebruikmakend van 2 verschillende ijklijnen. Daarnaast werd het nitraat en nitrietgehalte in alle extracten met ionenchromatografie (= referentiemethode) bepaald.

De resultaten bekomen met de discrete analyser werden vergeleken met de resultaten bekomen met ionenchromatografie en zijn weergegeven in Figuur 16. De resultaten tussen de 2 verschillende technieken zijn goed in overeenstemming.



Figuur 16 Vergelijkende analyses ($n=9$) van TON (Cd kolom) in waterige uitlogingen van effluënten

Uit de duplo analyseresultaten ($n=9$) werd de procentuele variatiecoëfficiënt (CV_R) berekend. Deze bedraagt 4.6%.

In Tabel 13 zijn de meetresultaten (1^{ste} meetreeks) getoond van de originele extracten alsook van de gedopeerde extracten en de bekomen rendementen van de dopering. Deze rendementen zijn gelegen tussen 96 en 98%.

Tabel 13 Resultaten van TON (Cd kolom) in waterige uitloging van effluënten

Vitonr	Verdunning	Monster mg N/L	Monster + spike mg N/L	Spike mg N/L	Rendement %
20115632/A	5	2,23	7,67	1,13	96
20115633/A	1	0,52	1,60	1,13	96
20115634/A	10	5,39	16,4	1,13	98

Voor de bepaling van TON in waterige extracten van *vloeibare dierlijke digestaten* is de methode NIET toepasbaar. Door de aanwezigheid van olie- en vetachtige substanties in de digestaten (vetzuren) treedt er vervuiling van de Cd reductiekolom op waardoor de reductie van nitraat na enkele analyses van reële monsters onvoldoende is. Voor bijkomende resultaten zie paragraaf 5.8.

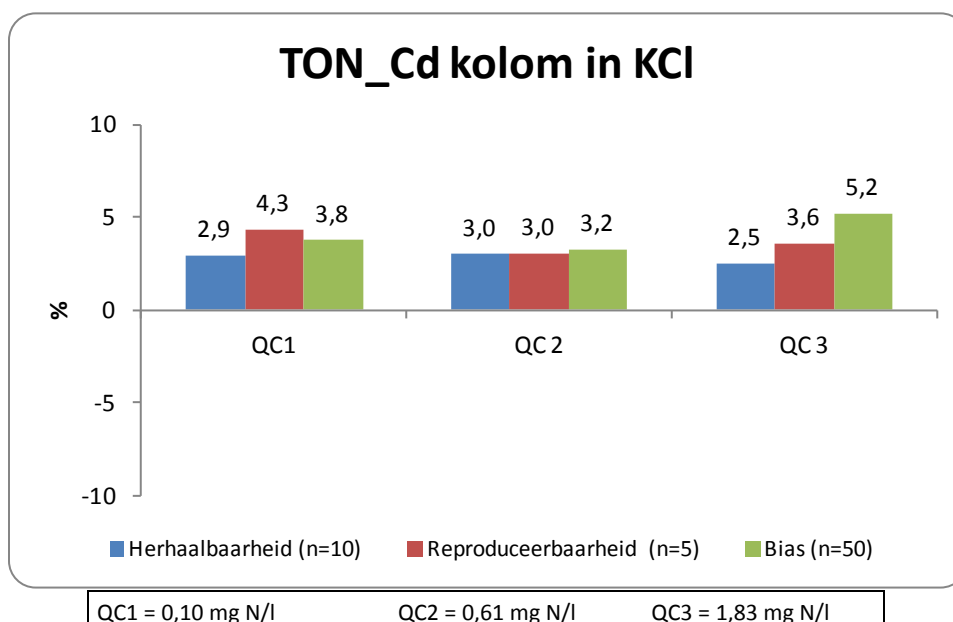
5.6. RESULTATEN TON MET CD KOLOM IN 1M KCl

De validatie van TON (nitraat + nitriet) in 1M KCl werd uitgevoerd op standaardoplossingen aangemaakt in 1M KCl. Voor de validatie van de procedure werden steeds 3 onafhankelijke controlestandaarden gebruikt. De eerste standaard ligt op het laagste punt (=QC 1), de tweede op $\frac{1}{4}$ (= QC 2) en de derde op $\frac{3}{4}$ (=QC 3) van het ijkgebied.

Deze drie standaarden werden 10 keer per dag gemeten om hieruit de herhaalbaarheid te berekenen, en dit op 5 verschillende dagen gemeten, om hieruit de reproduceerbaarheid af te leiden. Uit de resultaten van de verschillende metingen ($n=50$) kon de juistheid berekend worden. Tabel 14 en Figuur 17 geven de prestatiekenmerken voor de parameter TON in 1M KCl weer.

Tabel 14 Prestatiekenmerken voor de parameter TON- Cd kolom in 1M KCl

Parameter	TON KCl – Cd kolom	
Meetgebied	mg N/l	0,1 - 2,5
Lineariteit		Lineair
Aantoonbaarheidsgrens	mg N/l	0,012
Bepalingsgrens	mg N/l	0,024
Herhaalbaarheid (QC2)	%	3,0
Reproduceerbaarheid (QC2)	%	3,0
Juistheid (bias) (QC2)	%	3,2
Meetonzekerheid (QC2)	%	9,3



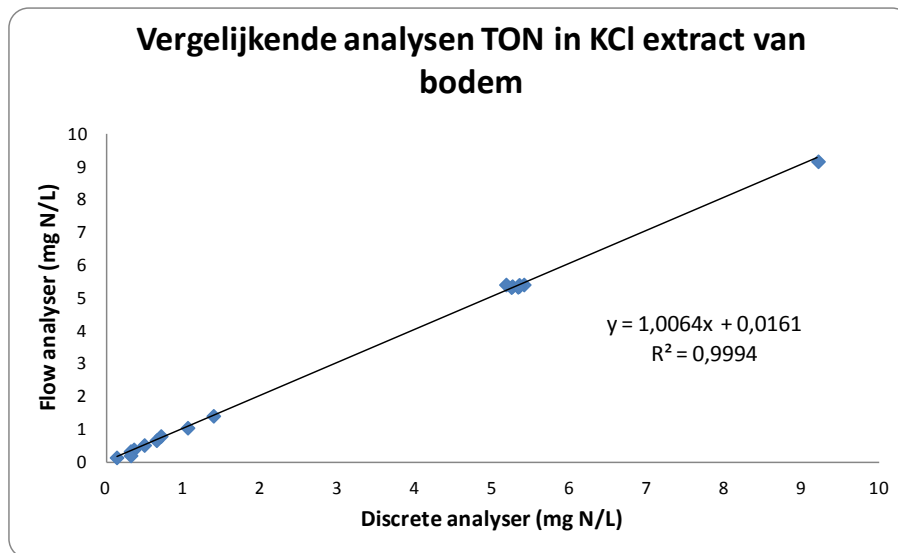
Figuur 17 Prestatiekenmerken voor de parameter TON-Cd kolom in 1M KCl

5.7. RESULTATEN TON MET CD KOLOM IN KCl EXTRACTEN VAN BODEMMONSTERS

TON (nitraat+ nitriet) wordt bepaald in KCl extracten van bodemmonsters (BAM/deel2/04).

De validatie van de parameter TON in KCl extracten van bodems met de discrete analyser werd uitgevoerd op extracten van reële bodemmonsters. Hiervoor werden KCl extracties uitgevoerd van verschillende bodemmonsters. De analyses van de extracten werden uitgevoerd in duplo gebruikmakend van 2 verschillende ijklijnen.

De resultaten bekomen met de discrete analyser werden vergeleken met de resultaten bekomen met de doorstroomanalysemethode en zijn weergegeven in Figuur 18. De resultaten tussen de 2 verschillende technieken zijn goed in overeenstemming.



Figuur 18 Vergelijkende analyses ($n=18$) van TON (Cd kolom) in KCl extract van bodem

Uit de duplo analyseresultaten ($n=18$) werd de procentuele variatiecoëfficiënt (CV_R) berekend. Deze bedraagt 2.9%.

5.8. RESULTATEN TON MET CD KOLOM IN KCL EXTRACTEN VAN VASTE DIERLIJKE DIGESTATEN

Voor de bepaling van TON in KCl extracten van *vaste dierlijke digestaten* is de methode NIET toepasbaar. Door de aanwezigheid van olie- en vetachtige substanties in de digestaten (vetzuren) treedt er vervuiling van de Cd reductiekolom op waardoor de reductie van nitraat na enkele analyses van reële monsters onvoldoende is.

Doperingsexperimenten van reële monsters toonden aan dat de terugvindingsgraad van de dopering te laag is. Bovendien werd vastgesteld dat de QAQC van nitraat na een aantal analyses systematisch daalt wat wijst op een vervuiling van de Cd kolom.

Tabel 15 Resultaten van TON (Cd kolom) in 1M KCl in vaste dierlijke digestaten

Vitonr.	verduunning	Monster mg N/L	Monster + spike mg N/L	Spike mg N/L	Rendement %
20115416/1	1	< 0,1	0,42	1,13	33
20115417/1	1	< 0,1	0,41	1,13	31
20115418/1	1	0,10	0,78	1,13	60
20115419/1	1	0,72	0,92	1,13	17
20115420/1	10	3,72	10,4	1,13	59
20113452/1	1	< 0,1	0,00	1,13	0

Op basis van deze resultaten kan besloten worden dat de bepaling van TON in 1M KCl extracten van vaste dierlijke digestaten NIET kan uitgevoerd worden met de discrete analyser.

5.9. BESPREKING

Bij het op punt stellen van de methode voor de bepaling van TON met de Cd methode in water en KCl zijn er geen significante problemen vastgesteld. Initieel diende de methode wel geoptimaliseerd te worden wat betreft de hoeveelheid monster, hoeveelheid reagentia, incubatietijd,...

De bekomen resultaten toonden aan dat de bepaling van TON met de Cd kolom toepasbaar is voor de analyse van waterige extracten met de effluenten van de mestverwerking en voor de analyse van KCl extracten van bodemmonsters. Voor de analyse van extracten van vloeibare en vaste dierlijke digestaten treden te sterke matrixeffecten op en is de inzetbaarheid van de discrete analyser niet mogelijk.

Bij het uitvoeren van deze analyses dienen wel volgende items mee in rekening gebracht te worden:

- Voor de bepaling van TON met de cadmium reductiekolom is het noodzakelijk om de reductie efficiëntie op te volgen. Eigen expertise toonde aan dat de (automatische) regeneratie van de kolom dagelijks diende uitgevoerd te worden zodat de kwaliteitscontroles voldoen aan de vooropgestelde eisen.
- De experimenten toonden eveneens aan dat de werkbuffer dagelijks vers moet worden aangemaakt. Deze werd aangemaakt uit de stock oplossing waaraan geen TRITON®-X was toegevoegd en die een maand houdbaar is. Wanneer TRITON®-X is toegevoegd, is de werkbuffer maximaal 1 dag houdbaar.
- Het kleurreagens dient bewaard te worden bij 4°C in het donker.

Samengevat kan gesteld worden dat de discreet analyser:

- Inzetbaar is voor de bepaling van TON in effluenten
- Inzetbaar is voor de bepaling van TON in 1M KCl extracten van bodemmonsters
- Niet inzetbaar is voor de bepaling van TON in waterige uitlogingen van vloeibare dierlijke mest omwille van sterke matrixeffecten.
- Niet inzetbaar is voor de bepaling van TON in KCl extracten van vaste dierlijke mest omwille van sterke matrixeffecten.

HOOFDSTUK 6. BESLUIT

Voor de analyse van anionen en kationen in water die in het kader van de Vlaamse wetgeving worden uitgevoerd, wordt de discrete analyser meer en meer ingezet. Deze toestellen zijn geautomatiseerde spectrofotometers met een grote flexibiliteit en mogelijkheid tot grote omzet van parameters en monsters. De huidige BAM-methoden omvatten echter enkel manuele en /of doorstroomanalysemethoden voor deze parameters en er is geen controle over de juistheid en inzetbaarheid van de gebruikte procedures met de discrete analyser binnen de verschillende laboratoria. Bijgevolg is het noodzakelijk om na te gaan of deze methoden universeel inzetbaar zijn voor de matrices relevant in het kader van analyses van het Mestdecreet en of de kwaliteit en betrouwbaarheid van de analysedata voor deze parameters kan worden gegarandeerd.

Voor de analyses in het kader van het Mestdecreet werd de inzetbaarheid van de discrete analyser geëvalueerd voor de bepaling van volgende parameters:

- Bepaling van ammonium in neutraal medium, in KCl medium en in zuur medium
- Bepaling van TON (nitraat+nitriet) in neutraal medium en KCl medium
 - Met hydrazine methode
 - Met Cd reductie methode
- Bepaling van nitriet in KCl medium

Bij evaluatie van de inzetbaarheid van de discrete analyser (met de AQ2+) kunnen volgende besluiten geformuleerd worden:

- Bodemonsters:
 - Bepaling van NO_3 in het KCl extract
 - Hydrazine methode: *bepakt inzetbaar*, beperking wat betreft gevoeligheid
 - Cd methode: *inzetbaar*
 - Bepaling van NO_2 in het KCl extract: *inzetbaar*
 - Bepaling van NH_4 in het KCl extract : *inzetbaar*
- Vloeibare dierlijke mest:
 - Bepaling van NH_4 in waterige uitloging: *inzetbaar* – hoge concentratie aan ammonium laat verdunning van het monster toe
 - Bepaling van NH_4 in aangezuurde destructieoplossing voor de bepaling van totaal N: *inzetbaar*
 - Bepaling van som(NO_3 en NO_2) (als bijdrage bij totaal N bepaling) in waterige uitlogingen van mest (hydrazine methode en Cd methode):
 - *niet inzetbaar*: bij vloeibare dierlijke mest
 - *inzetbaar*: bij effluenten van de mestverwerking- hoge concentratie aan TON laat verdunning van het monster toe
- Vaste dierlijke mest:
 - Bepaling van NH_4 in KCl: *inzetbaar* – hoge concentratie aan ammonium laat verdunning van het monster toe
 - Bepaling van NH_4 in aangezuurde destructieoplossing voor de bepaling van totaal N: *inzetbaar*
 - Bepaling van som(NO_3 en NO_2) (als bijdrage bij totaal N bepaling) in KCl uitlogingen van mest (hydrazine methode en Cd methode): *niet inzetbaar*

Bij de evaluatie werd vastgesteld dat bij analyse van de mestmonsters (vaste en vloeibare dierlijke mest) de matrix een significante invloed heeft op het uiteindelijke analyseresultaat. Indien het gehalte aan te analyseren component hoog is, kan het monster sterk verdund worden (factor 50 à 100) en zal bijgevolg de bijdrage van de matrix ondervangen worden. Bij deze monsters kan de discrete analyser enkel ingezet worden indien na verdunning nog wordt voldaan aan de eis van bepalingsgrens.

In vergelijking met de flow analyser heeft de discrete analyser een eenvoudiger configuratie. Bij 'eenvoudige' matrices is de discrete analyser inzetbaar, maar bij hoog belaste matrices zal de flow analyser een meerwaarde bieden door aanwezigheid van bv. dialysemembraan dat in staat is om een deel van de aanwezige storende interferenten te ondervangen. Bovendien wordt bij de flow analyser 'overflow' vastgesteld, dwz indien de concentratie van het monster te hoog is en bijgevolg buiten het meetgebied valt (overflow). Bij de discrete analyser daarentegen wordt dit niet waargenomen en kunnen foutieve resultaten gerapporteerd worden. Bij monsters met een hoog ammonium gehalte wordt een waarde < rapporteergrens bekomen indien deze onverdund worden gemeten. Enkel door het monster meerdere keren te verdunnen en te doperen kan gecontroleerd worden of het uiteindelijke resultaat de werkelijke waarde benadert.

Voorafgaandelijk opzuivering van het monster gevolgd door discrete analyser is eveneens mogelijk, maar dan zal de automatisatie en de eenvoud van de analyse verloren gaan.

Bij het uitvoeren van de analyses dient wel rekening gehouden te worden met volgende aandachtspunten:

- Alle standaarden (incl. blanco) dienen aangemaakt te worden in hetzelfde medium als de analysemonsters.
- De houdbaarheid van de reagentia speelt een belangrijke rol in de juistheid van de analyseresultaten. De validatietesten toonden aan dat voor sommige reagentia deze houdbaarheid beperkt is tot 1 dag.
- Bij bepaling van ammonium en TON in KCl medium is de blanco controle belangrijk. De methode is gevoelig aan contaminatie van ammonium en TON in oa. de reagentievatjes.
- Voor de bepaling van TON met de cadmium reductiekolom is het noodzakelijk om de reductie efficiëntie op te volgen. Eigen expertise toonde aan dat de (automatische) regeneratie van de kolom dagelijks diende uitgevoerd te worden zodat de kwaliteitscontroles voldoen aan de vooropgestelde eisen.

LITERATUURLIJST

¹ ISO/DIS 15923-1:2011 Water quality - Determination of ions by a discrete analysis system and spectrophotometric detection - Part 1: Ammonium, chloride, nitrate, nitrite, orthophosphate, silicate and sulfate.

² NEN 6604 ter beschikking: "Water- Bepaling van het gehalte aan ammonium, nitraat, nitriet, chloride, ortho-fosfaat, sulfaat en silicaat met een discreet analysesysteem en spectrofotometrische detectie.

³ <http://www.epa.gov/region4/sesd/oqa/discrete-analyzers.pdf>

⁴ EPA method EPA-127-A Rev 5, *Nitrate-N and nitrite-N in drinking and surface water, and domestic and industrial wastes.*