

NN31545.1352

A 1352 ^{II}

juni 1982

Instituut voor Cultuurtechniek en Waterhuishouding
Wageningen

**BIBLIOTHEEK
STARINGGEBOUW**

SPECTROFOTOMETRISCHE BEPALING VAN AMMONIUM IN
WATER MET BEHULP VAN NATRIUM SALICYLAAT

T. de Jong

Nota's van het Instituut zijn in principe interne communicatiemiddelen, dus geen officiële publikaties. Hun inhoud varieert sterk en kan zowel betrekking hebben op een eenvoudige weergave van cijferreeksen, als op een concluderende discussie van onderzoeksresultaten. In de meeste gevallen zullen de conclusies echter van voorlopige aard zijn omdat het onderzoek nog niet is afgesloten. Bepaalde nota's komen niet voor verspreiding buiten het Instituut in aanmerking

31 DEC. 1982

JSN 175240-02

I N H O U D

	blz.
1. INLEIDING	1
2. METHODE	2
3. REACTIE MECHANISME EN VEILIGHEID	3
4. RESULTATEN EN DISCUSSIE	4
4.1. Het absorptie spectrum	4
4.2. Invloed van de lichtintensiteit op de kleuring	5
4.3. Invloed van de pH op de kleuring	6
4.4. Invloed van de tijd op de kleuring	7
4.5. Invloed van de toe te voegen hoeveelheid reagentia op de kleuring	8
4.6. Het meetgebied	10
4.7. Vergelijking met de Nessler reagens methode	11
5. SAMENVATTING EN CONCLUSIE	12
6. LITERATUUR	13
BIJLAGE	14

1. INLEIDING

Op het Waterkwaliteitslaboratorium van het Instituut voor Cultuurtechniek en Waterhuishouding, is de huidige spectrofotometrische ammoniumbepaling volgens NEN 3235-6.1.1. aan een ondergrens van 0,1 à 0,2 mg NH_4^+ /l gebonden. Aangezien er op dit laboratorium regelmatig watermonsters geanalyseerd moeten worden, die een zeer laag NH_4^+ gehalte hebben, is er een gevoeliger methode ontwikkeld. Deze methode wordt ook gebruikt bij het Limnologisch Instituut te Nieuwersluis, waar H. Verdouw, C.J.A. van Echteld en E.N.J. Dekker de salicylaatmethode, voor het bepalen van ammonium in watermonsters, in 1977 publiceerden. Zij vonden dat de methode ongevoelig was voor storingen van alle normaal in water voorkomende stoffen. Bouwers gebruikte vrijwel dezelfde methode voor de analyse van NH_4^+ in zeewater. De salicylaatmethode heeft als ondergrens circa 0,01 mg NH_4^+ /l en is dus veel gevoeliger dan de huidige Nessler reagens methode. Het Nessler reagens (KHgI_4) is zeer giftig. Het kan onder andere haar- en tanduitval veroorzaken bij lichamelijk contact. Bij de salicylaatmethode wordt het niet giftige natrium salicylaat gebruikt.

2. METHODE

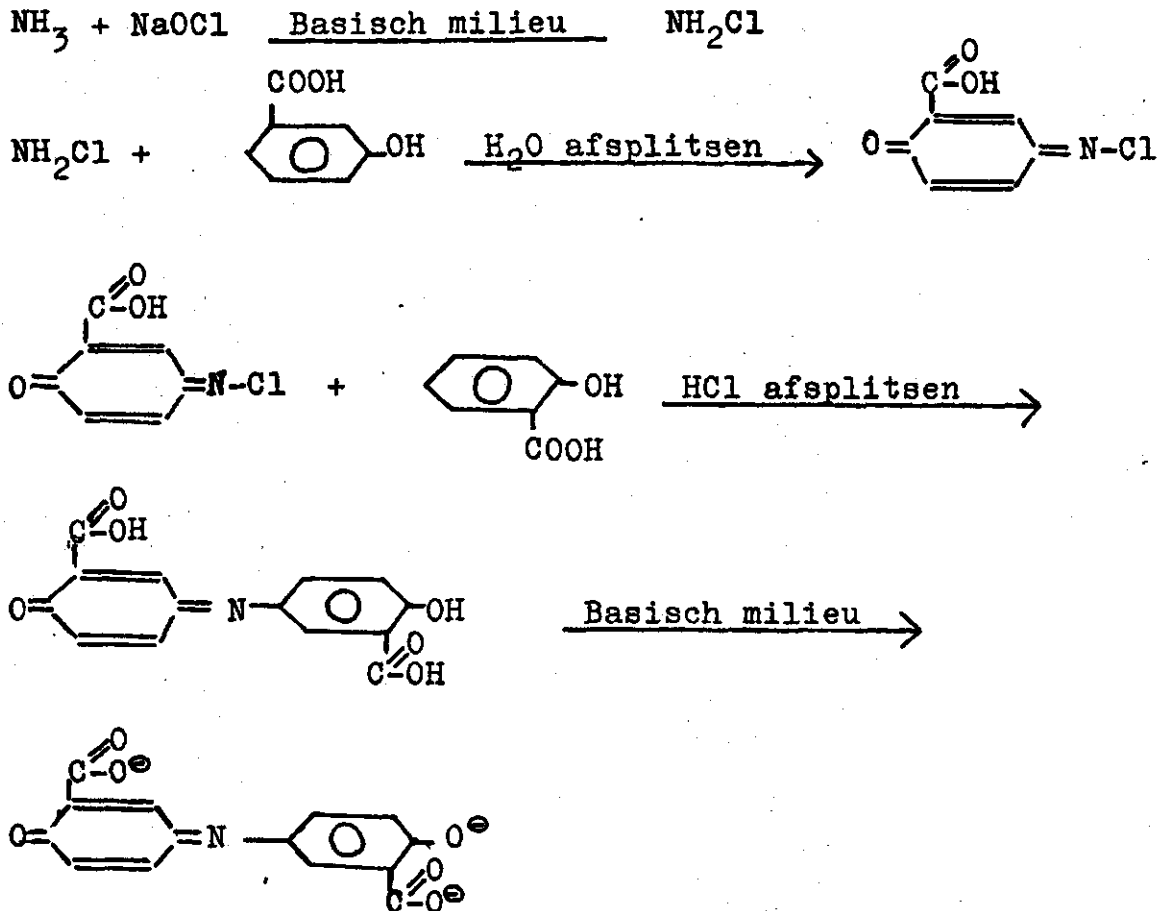
De salicylaat-methode is een modificatie van de veel gebruikte indo-fenol-methode, maar bij de salicylaat-methode wordt er met natrium-salicylaat gewerkt in plaats van fenol bij de indo-fenol-methode (fenol is namelijk zeer giftig MAC: 5).

Bij de salicylaat-methode worden 4 reagentia aan de oplossing toegevoegd, die zich in een maatkolf van 50 ml bevindt:

- 0,5 ml 10N NaOH in verband met de optimale pH voor de kleuring
- reagens A 5 ml 40% natrium salicylaat
De natrium salicylaat wordt omgezet met ammonium tot een indo fenol (zie blz. 3)
- reagens B 2 ml 1,93% natrium hypochloriet, neemt deel aan de kleuringsreactie
- reagens C 5 ml 2% natrium citraat en 10% kalium hexa cyano ferraat
Het citraat fungeert als buffer en complexeert eventueel aanwezige metaalionen. Het kalium hexa cyano ferraat fungeert als katalysator.

Bij de salicylaat-methode speelt licht een belangrijke rol in verband met de kleuring. Zonder licht wordt de kleur niet ontwikkeld. Er is gebruik gemaakt van een TL-bak, waarop de monsters gedurende 1½ uur zijn belicht. Hierna is de extinktie gemeten bij 650 nm (spectrofotometer Perken Elmer 550S).

3. REACTIE MECHANISME EN VEILIGHEID



salicylaat-indofenol complex.

Veiligheid: Bij de salicylaat-methode brengt de kleuring een scherpe doordringende geur met zich mee. Met behulp van de HPLC is nagegaan welke fenolachtige stof deze geur veroorzaakt (methode Ursinus, 1982). Uit dit onderzoek bleek dat de geur waarschijnlijk wordt veroorzaakt door een Cresol. Het onderzoek met de HPLC is alleen uitgevoerd bij 280 nm, het is daardoor niet met zekerheid te zeggen of het inderdaad Cresol is.

Om geen onnodig risico te lopen dient in de zuurkast te worden gewerkt. De afvoer van de doorstroomkuvet dient ook in de zuurkast uit te komen.

4. RESULTATEN EN DISCUSSIE

4.1. Het absorptie spectrum

Een spectrofotometrische bepaling moet aan bepaalde voorwaarden voldoen, om een betrouwbaar resultaat te geven:

1. de oplossing mag niet troebel zijn;
2. de oplossing mag niet te hoog geconcentreerd zijn;
3. de oplossing moet licht absorberen van een bepaalde λ .

De huidige spectrofotometrische ammonium bepaling meet de lichtabsorptie bij 420 nm, dat wil zeggen dat de vloeistof na volledige kleuring met het Nessler reagens licht absorbeert dat een golflengte van 420 nm heeft. Omdat er op het Waterkwaliteitslaboratorium regelmatig geel-bruin gekleurde watermonsters zijn die op zich ook licht absorberen bij 420 nm, is het noodzakelijk om de watermonsters eerst over te destileren, voor er het ammoniumgehalte in bepaald kan worden. De salicylaat-methode meet een lichtabsorptie bij 650 nm. De geel-bruin gekleurde watermonsters absorberen bij 650 nm vijf maal minder licht dan bij 420 nm en omdat de salicylaat-methode veel gevoeliger is, kan er veel minder monster gebruikt worden, zodat over destileren meestal overbodig is geworden.

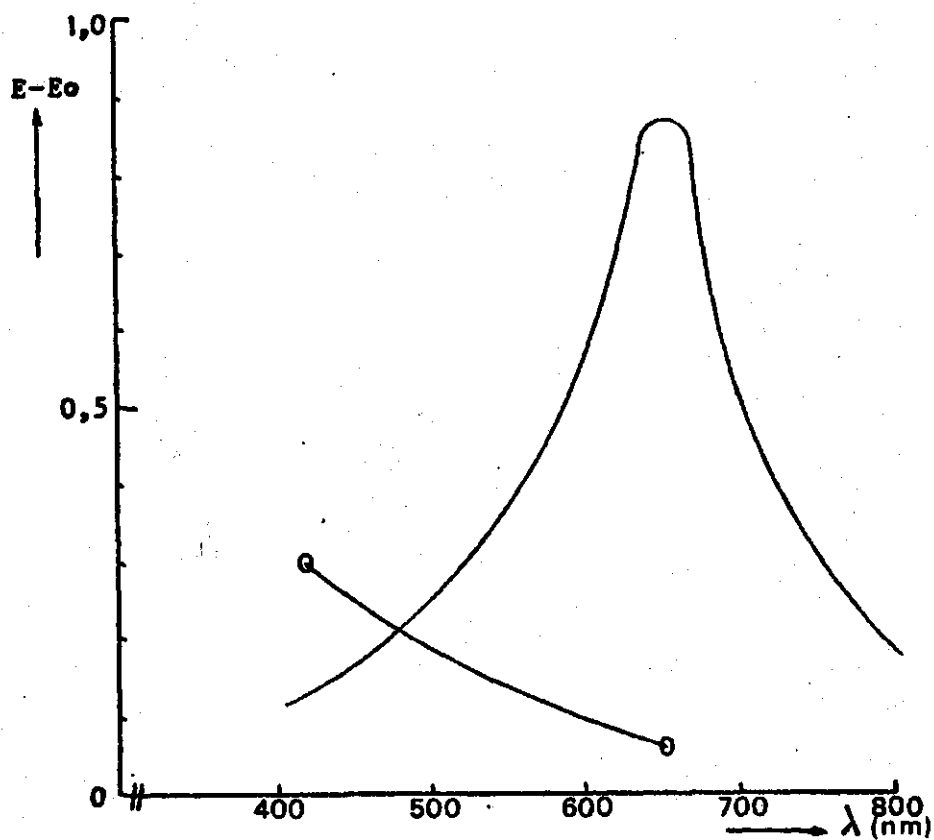


Fig. 1. Het absorptiespectrum van een geel-bruin gekleurd watermonster en van een standaard van de salicylaat-methode na volledige kleuring. (omstandigheden zie methode). 0 = geel-bruin gekleurd watermonster

4.2. Invloed van de lichtintensiteit op de kleuring

Bij de salicylaat-methode speelt licht een belangrijke rol bij de kleurontwikkeling. Daarom is nagegaan hoe groot de invloed van het licht is op de kleuring. Er is uitgegaan van drie dezelfde standaardreeksen, die alle drie bij ander licht zijn ingezet. De resultaten zijn weergegeven in figuur 2.

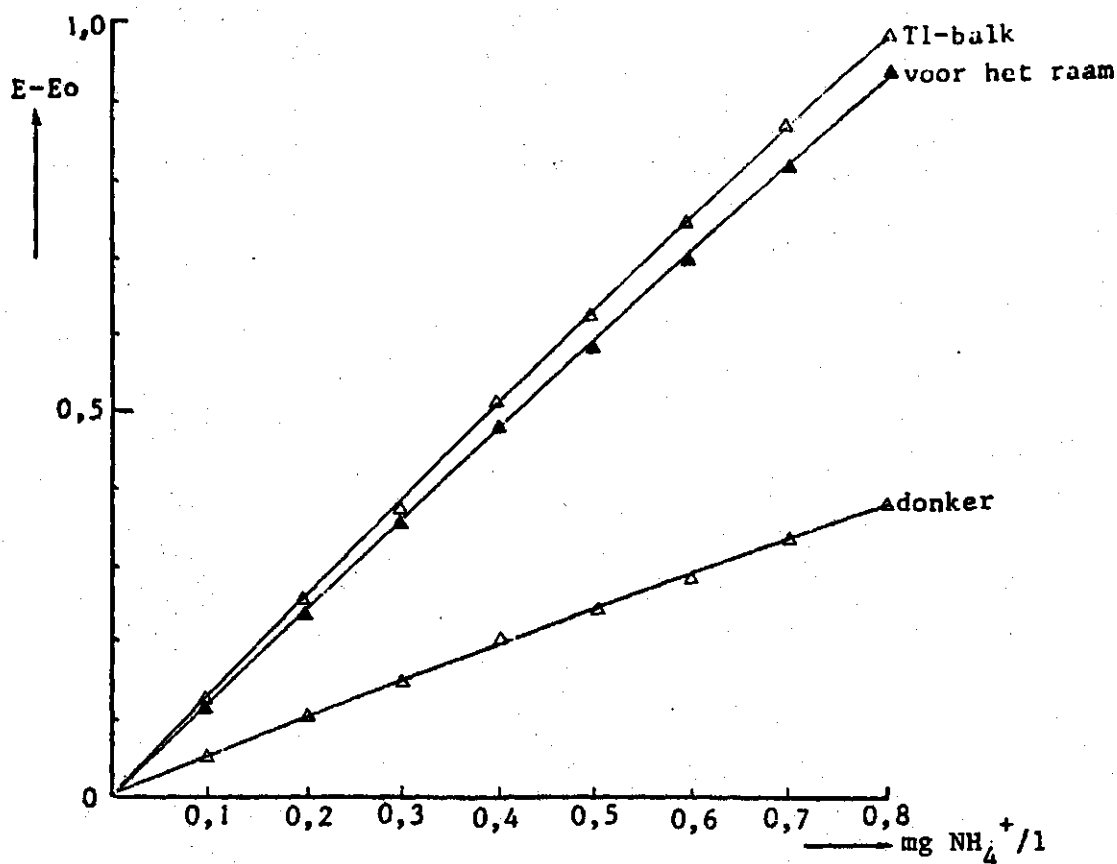


Fig. 2. De invloed van de lichtintensiteit op de kleuring (overige omstandigheden, zie methode).

Uit figuur 5 blijkt, dat, bij zowel voor het raam als met Tl-balk een goede kleuring wordt verkregen. Daar de lichtintensiteit voor het raam weinig constant is, is gekozen voor het goed reproduceerbare belichten met een Tl-balk.

4.3. Invloed van de pH op de kleuring

De kleuring bij de salicylaat-methode is erg pH afhankelijk. Harmsen (1974) vond dat bij gebruik van fenol de kleur optimaal ontwikkelt bij een pH tussen 11,4 en 11,8.

Dit is nogal kritisch, daarom is nagegaan in hoeverre bij de salicylaat-methode de pH van invloed is. De resultaten staan weergegeven in figuur 3.

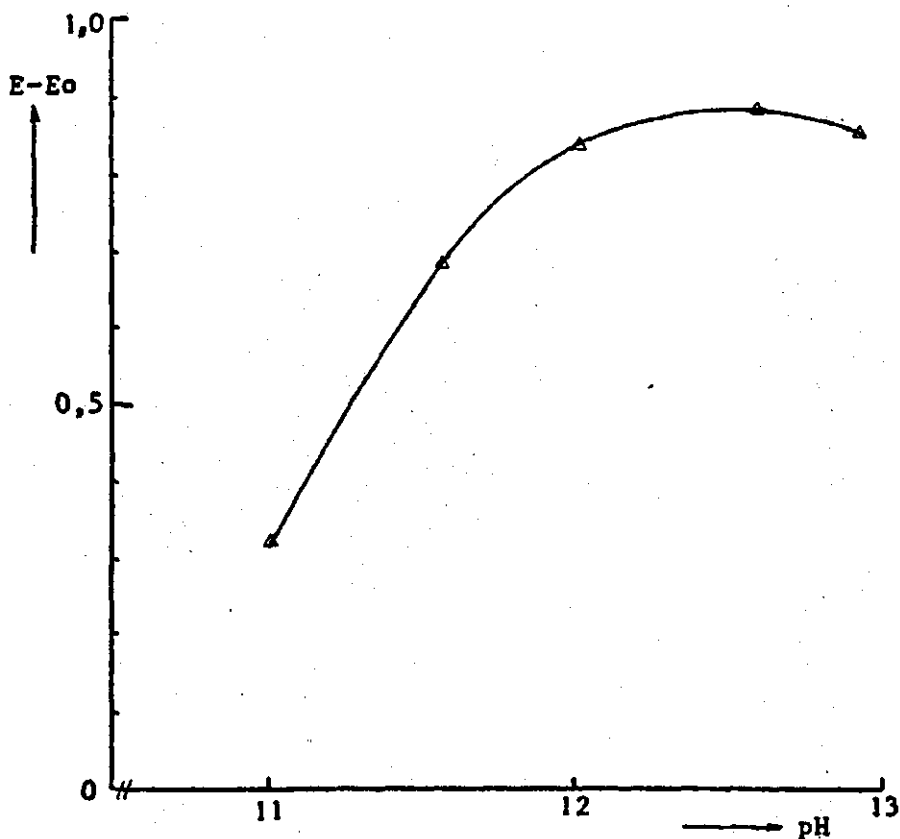


Fig. 3. De invloed van de pH op de kleuring (overige omstandigheden, zie methode).

Uit figuur 3 blijkt dat er een optimale kleuring optreedt bij een pH hoger dan 12,3. Deze optimale pH wordt bereikt door, vóór het toevoegen van de reagentia 0,5 ml 10N NaOH aan de maatkolf toe te voegen. Deze 0,5 ml 10N NaOH is ook voldoende om de pH van aangezuurde watermonsters optimaal te maken. Worden de reagentia toegevoegd bij een te lage pH dan treedt geen kleuring op. Ook niet als de oplossing hierna op de optimale pH wordt gebracht. Het is dus van zeer groot belang dat de oplossing eerst basisch wordt gemaakt met 0,5 ml 10N NaOH voordat de reagentia worden toegevoegd.

4.4. Invloed van de tijd op de kleuring

De tijd speelt een belangrijke rol op de kleuring. Bij het nagaan welke invloed de tijd op de kleuring heeft, is een oplossing, die 0,8 mg NH_4^+ /l bevatte, ingezet boven een lichtbak. Na elk kwartier is de

extinktie gemeten bij 650 nm. De resultaten van deze metingen zijn weergegeven in figuur 4.

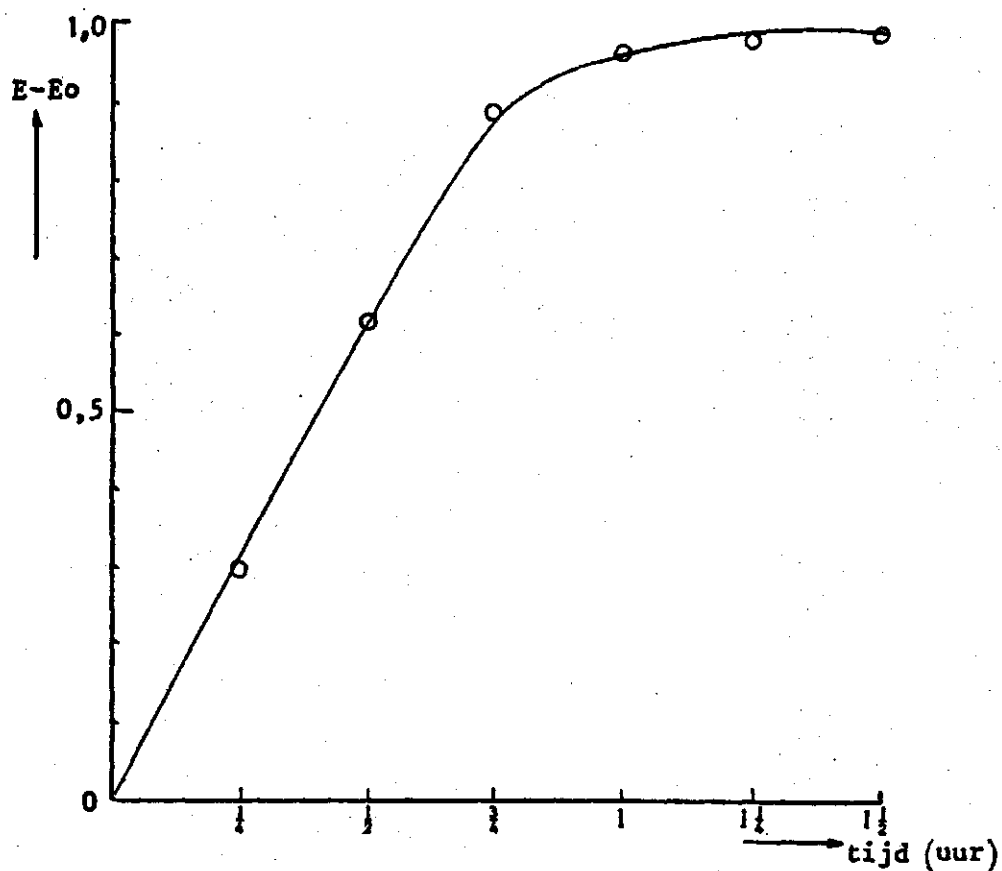


Fig. 4. De invloed van de tijd op de kleuring (overige omstandigheden, zie methode).

Uit figuur 4 blijkt dat na $1\frac{1}{4}$ uur de maximale kleuring is bereikt. Deze maximale kleuring blijft zeker nog een $\frac{1}{2}$ uur constant, zodat er ook na $1\frac{3}{4}$ uur gemeten kan worden zonder dat de betrouwbaarheid achteruit gaat. Er is gekozen voor een belichtingstijd van $1\frac{1}{2}$ uur. Er is aan de oplossing 2 ml van reagens B en 5 ml van reagentia A en C toegevoegd.

4.5. Invloed van de toe te voegen hoeveelheid reagentia op de kleuring

Er is nagegaan wat de invloed op de kleuring is, als er één van de drie toe te voegen reagentia in een andere hoeveelheid wordt toegevoegd aan de oplossing en de andere twee reagentia in de hoeveelheden

die in het hoofdstuk methode opgegeven worden. De resultaten van de metingen naar de invloed van de hoeveelheid toe te voegen reagentia, zijn weergegeven in figuur 5.

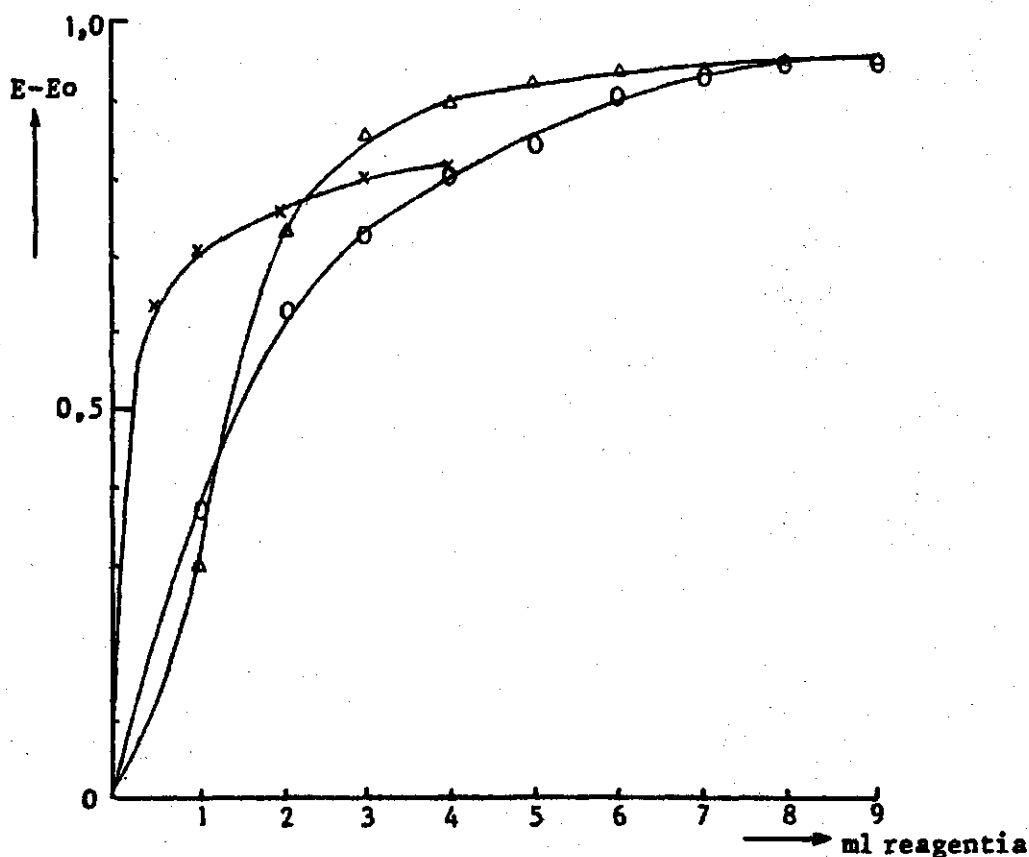


Fig. 5. De invloed van de hoeveelheid toe te voegen reagentia op de kleuring.

- O = invloed hoeveelheid reagens A bij 2 ml B en 5 ml C
- x = invloed hoeveelheid reagens B bij 5 ml A en 5 ml C
- Δ = invloed hoeveelheid reagens C bij 5 ml A en 2 ml B

Uit figuur 5 blijkt dat wanneer er van reagens B 2 ml en van reagentia A en C 5 ml aan de oplossing wordt toegevoegd, dit ruim voldoende is voor een goede kleuring. Daar geen optimum wordt bereikt, is het van belang dat standaardreeks en monsters evenveel reagentia bevatten.

4.6. Het meetgebied

Bij de salicylaat-methode wordt gebruikt als standaard een oplossing die van 0,1 - 0,8 mg NH_4^+ /l bevat in de vorm van $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. In figuur 6 is een ijklijn van de salicylaat-methode weergegeven.

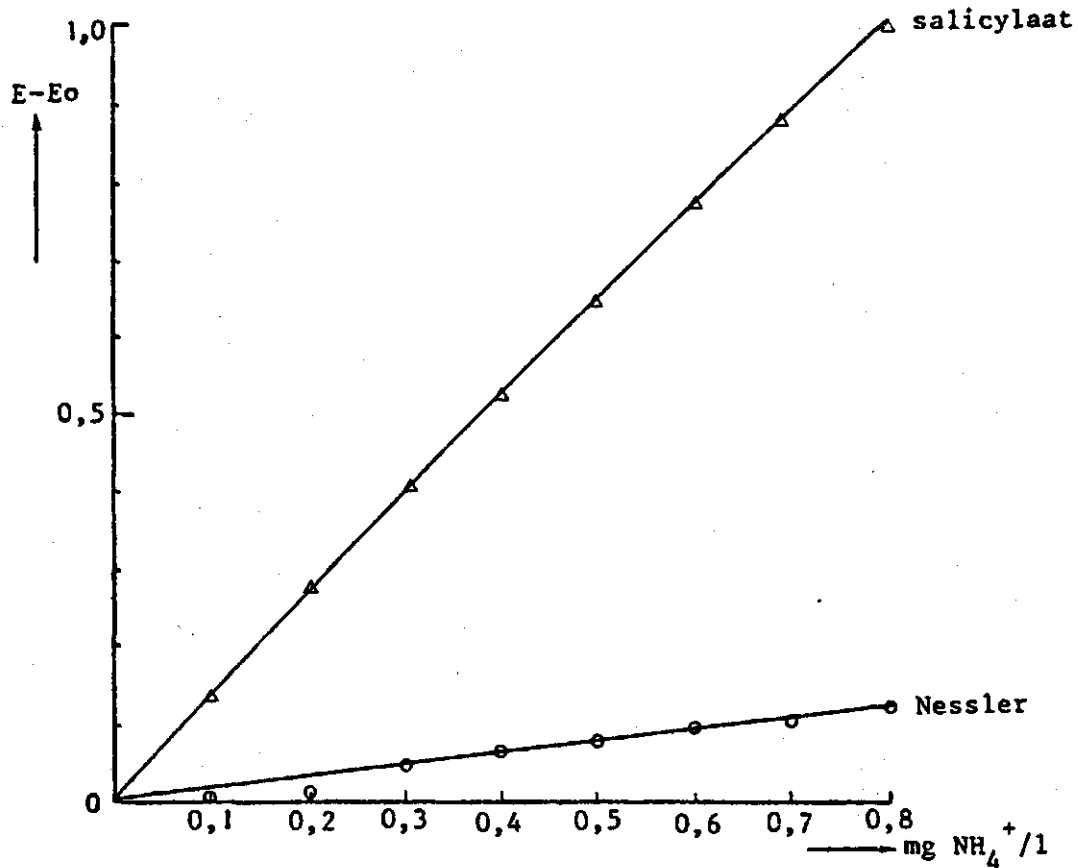


Fig. 6. Ijklijnen van de salicylaat- en Nessler-methode

Uit de ijklijn blijkt dat de ondergrens van de salicylaat-methode ($E - E_0 = 0,01$) ligt bij 0,007 mg/l in de meetoplossing. Dit komt overeen met een NH_4^+ gehalte in het monster van 0,01 mg/l (bij 35 ml monster). Bij een vergelijking met de Nessler methode blijkt de salicylaat-methode een factor 8 gevoeliger te zijn.

De ijklijn van de salicylaat-methode is niet helemaal recht. De ijklijn blijkt reproduceerbaar binnen 3%. Er zijn echter te weinig gegevens om hier voldoende zeker van te zijn. Daarom moet er bij iedere meting een standaardreeks worden meegenomen. Als de gegevens van al de standaardreeksen in één grafiek worden uitgezet en de spre-

ding niet te groot is kan er bij de daarop volgende metingen het ammonium gehalte uit deze grafiek afgelezen worden en is het overbodig om een hele standaardreeks mee te nemen (wel 1 of 2 punten als controle meenemen).

4.7. Vergelijking met de Nessler-reagensmethode

Bij de vergelijking tussen Nessler en salicylaat-methode zijn er synthetische monsters met een bekend ammonium gehalte gemaakt. In deze monsters, die variëren van 1-50 mg NH_4^+ /l, is het ammonium gehalte met de Nessler en de salicylaat-methode bepaald. Ook is een serie oppervlakte watermonsters op de beide manieren geanalyseerd. De oppervlakte watermonsters zijn mee bepaald om te kijken hoe de salicylaat-methode in de praktijk fungeert in verband met eventueel storende elementen. De resultaten staan weergegeven in figuur 7.

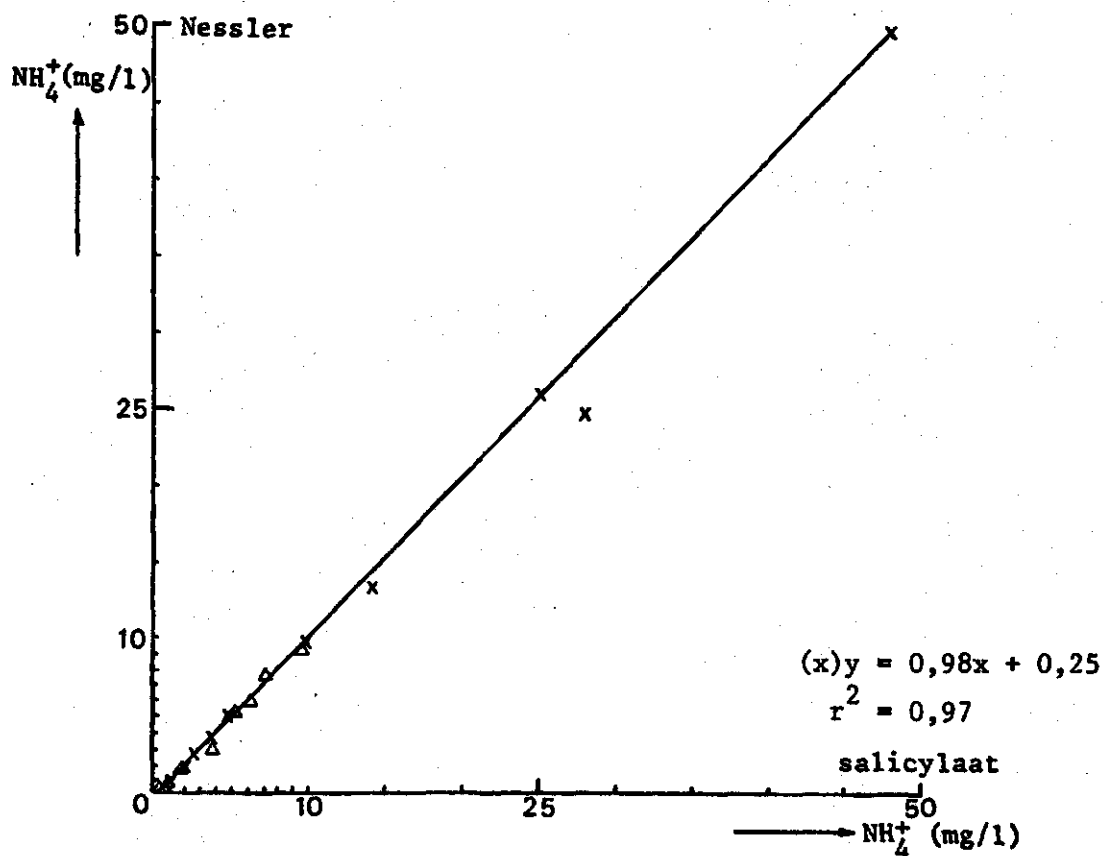


Fig. 7. Vergelijking salicylaat met Nessler methode

x = synthetisch monster Δ = oppervlakte watermonster

5. SAMENVATTING EN CONCLUSIE

In deze nota wordt een methode beschreven om het ammonium gehalte, in watermonsters met een zeer laag gehalte, te bepalen. Deze methode berust op een omzetting van ammonium met natrium salicylaat tot een blauw-groen gekleurd indo fenol, dat spectrofotometrisch te bepalen is bij 650 nm.

De methode heeft een ondergrens van 0,01 mg NH_4^+ /l. Er is nagegaan wat de invloed van de pH, licht, tijd en reagentia is op de kleurontwikkeling. De resultaten van de salicylaat-methode blijken overeen te komen met de Nessler-methode. De salicylaat-methode is echter veel gevoeliger. Hierdoor kan minder monster in behandeling worden genomen, waardoor de storingsgevoeligheid veel minder wordt. Het tijdrovende overdestileren van de NH_4^+ kan dan achterwege blijven.

6. LITERATUUR

- BOUWER, C.E. and T. HOLM-HANSEN, 1980. A Salicylate-Hypochlorite Method for Determining Ammonia in Sea water. *Can. J. Fish, Aquat. Sci.*, 37: 794-798.
- HARMSSEN, J., 1974. SEMI-AUTOMATISCHE EIWIT BEPALING op het autolab van Linson Instruments. Instituut voor Graan, Meel en Brood TNO, Wageningen.
- URSINUS, G., 1982. De analyse van alkylfenolen met behulp van HPLC (High performance liquid chromatography) ICW nota
- VERDOUW, H., C.J.A. VAN ECHELD en E.M.J. DEKKERS, 1977. Ammonia Determination based on Formation With Sodium Salicylate, *Water Research* 12 pg. 399-402.

Bijlage 1

WERKWIJZE

- Troebele watermonsters eerst overdestileren of filteren.
- Pipetteer v ml (max. 35 ml) in een maatkolf van 50 ml (zie tabel).
- Vul aan tot circa 35 ml.
- Voeg 0,5 ml 10N NaOH aan de maatkolf toe en meng goed.
- Voeg hierna direkt 2 ml van reagens B en 5 ml van reagentia A en C toe. Na toevoeging van elk reagentia goed mengen.
- Vul de maatkolf tot de streep en meng.
- Zet de monsters boven een Tl-bak en laat deze 1½ uur staan.
- Meet na 1½ uur de extinctie bij 650 nm met een spectrofotometer.
- Neem bij elke meting een standaardreeks mee, voor het maken van de ijklijn.

Tabel 1.

Ml monster	Verwacht NH_4^+ gehalte in mg l^{-1}
0,5	> 50
1,0	25
2,0	12,5
5,0	5
10,0	2,5
25,0	1
35,0	< 1

STANDAARDOPLOSSING

Los 733,3 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ op in 1 l

Pipetteer hieruit 50 ml en vul aan tot 1 l

Pipetteer hieruit 0,5-1,0-1,5-2,0-2,5-3,0-3,5-4,0 ml

In maatkolven van 50 ml en behandel deze hetzelfde als de watermonsters.

- Reagentia - 10N NaOH los 400 g NaOH op in 1 l water
- A 40% Natrium Salicylaat ($\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$)
los 40 g $\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$ op in 100 ml water
deze oplossing dagelijks vers bereiden
 - B 1,93% Natrium hypochloriet (NaOCl)
meng 12,87 g 15% NaOCl in 10 ml 0,1 N NaOH
deze oplossing is maanden houdbaar in de koelkast
 - C 10% Natrium Citraat en 2% Kalium hexa cyano Ferraat
los 10 g $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 2 g $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ op in 0,1 N NaOH
deze oplossing is enkele weken houdbaar in de koelkast,
maar het is beter om ook deze oplossing dagelijks vers te bereiden

OPMERKING

Bij het overdestileren wordt er gebruik gemaakt van 100 ml maatkolven. Aangezien er bij de salicylaat-methode gewerkt wordt met 50 ml maatkolven, moet er vanuit de 100 ml maatkolven weer in 50 ml maatkolven gepipetteerd worden om er verder mee te werken.