

CENTRUM VOOR AGROBIOLOGISCH ONDERZOEK  
WAGENINGEN

NITRAATBEPALING IN GEWASMONSTERS MET DE  
IONSELECTIEVE NITRAATELEKTRODE

W. Verhagen en N. Vertregt

CABO-verslag nr. 24

mei 1979

105/76.

INHOUD

Blz.

Inleiding: principe van de meetmethode

5

Resultaten

7

Conclusie

9

Samenvatting

9

## Inleiding

Principe van de methode.

Concentraties, in feite activiteiten, van ionen in oplossingen kunnen worden gemeten met een ionselectieve membraan-elektrode. Deze is samengesteld uit een in een houder opgesloten interne oplossing met een lage concentratie van het te meten ion, welke door een ionselectief membraan gescheiden is van de meetoplossing.

De elektrodepotentiaal, voor een eenwaardig ion, wordt gegeven door

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{A_i \text{ ext}}{A_i \text{ int}} \quad \text{waarin } R = \text{gasconstante, } F = \text{faraday (96490 C),}$$

$T = \text{temperatuur, } ^\circ\text{K en } A_i = \text{activiteit van het ion.}$

De elektrodepotentiaal is niet afzonderlijk te meten, voor de meting is een referentie-elektrode nodig.

De EMK van het elektrodenpaar wordt weergegeven door:

$$E = \text{constante} + \frac{2,3}{F} \frac{RT}{F} \log A_i \text{ ext}$$

De waarde van de constante wordt bepaald door de keuze van de referentie-elektrode en de samenstelling van de interne oplossing van de meetelektrode. Het heeft voordelen de constante zodanig te kiezen dat het iso-elektrisch punt midden in het normale meetgebied ligt. Bij de glaselektrode is het gebruikelijk het iso-elektrisch punt bij pH 7 te kiezen, voor de nitraatelektrode zou het iso-elektrisch punt bij  $1 \text{ mmol.l}^{-1}$  moeten liggen.

Voor eenwaardige ionen is de waarde van de factor  $2,303 \frac{RT}{F} = 59,16 \text{ mV}$  bij  $25^\circ\text{C}$ , dat wil zeggen voor elke tienvoudige toe- of afname van de concentratie van het te meten ion stijgt of daalt de spanning over de elektroden met  $59,16 \text{ mV}$ .

Bij de meting van de waterstofionenconcentratie is het gebruikelijk om de EMK in pH-eenheden uit te drukken, de schaal van de pH-meter is zodanig ingericht dat  $59,16 \text{ mV}$  overeenkomt met een pH-eenheid, waarbij  $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$ . Een hogere  $\text{H}^+$ -ionenconcentratie komt overeen met een hogere EMK en een lagere pH.

Afwijkingen in gevoeligheid van de glaselektrode kunnen worden gecompenseerd met behulp van een correctie-potentiometer de "slope"-instelling.

Bij de nitraatelektrode daalt de EMK met de nitraatconcentratie, de aflezing op de pH-schaal stijgt dus met hogere concentraties.

Het is gebruikelijk om de EMK van een elektrodenpaar, een ionselectieve membraan-elektrode en een referentie-elektrode, in mV af te lezen. Hierbij wordt echter een typisch kenmerk van een pH-meter de mogelijkheid om de helling, de mV-respons per pH-eenheid, in te stellen niet gebruikt. Hierdoor wordt het nood-

zakelijk per meetserie een ijkgrafiek te maken. Deze werkzaamheden kunnen normaal vervallen indien van de faciliteiten van het pH-meetgedeelte gebruik wordt gemaakt.

Zolang een zelfde ijklijn is in te stellen, kan een bestaande tabel of grafiek worden gebruikt.

De absolute over het elektrodenpaar gemeten spanning is in hoge mate afhankelijk van de conditie van de elektroden. De na verloop van tijd gemeten EMK's zijn sterk afwijkend van eerdere metingen. Het heeft ook om deze reden geen voordelen om mV-signalen te registreren.

De term "pNO<sub>3</sub>" wordt niet gebruikt omdat de getalwaarde van de instrumentaflezing niet met de concentratie overeenkomt en omdat de aflezing een maat is voor de positieve logaritme van de concentratie.

Het meetgebied "pH" 4 tot 8 wordt gebruikt voor concentraties van 0,02 tot 20 mmol per liter omdat dit meetgebied instrumenteel handig is in te stellen en omdat het concentratiebereik overeenkomt met de gebruikelijke nitraatconcentraties in de te onderzoeken monsters en met de toepassingsgrenzen van de methode.

Bij het gebruikelijke elektrodenpaar, de ORION 93-07 nitrate selective membrane electrode en ORION 90-02 double junction reference electrode is de EMK ca. 90 mV voor een 10<sup>-2</sup> molair nitraatoplossing.

Het isopotentialpunt ligt dan bij ca. 5.10<sup>-1</sup> molair nitraat.

De referentie-elektrode is een Ag/AgCl elektrode in een KCl-oplossing waarvan de potentiaal vergelijkbaar is met een calomelelektrode. De buitenkamer wordt gevuld met een zelfde oplossing als wordt toegevoegd aan de meetoplossingen, tot een zelfde eindconcentratie; in het algemeen is dit 5,284 g.l<sup>-1</sup> ammoniumsulfaatoplossing.

Een voorbeeld van de relatie tussen mV en "pH" aflezing wordt voor nitraatoplossingen zonder toevoegingen gegeven in de volgende tabel. De mV-waarden zijn absoluut, de "pH"-waarden zijn ingesteld voor 10,0 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.l<sup>-1</sup> op 7,700 en voor 1,00 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.l<sup>-1</sup> op 6,700.

nitraat, mmol.l <sup>-1</sup>	"pH"	mV
0	5,148	207,4
0,03	5,334	196,6
0,1	5,721	174,2
0,3	6,172	148,0
1,0	6,700	117,4
3,0	7,162	90,6
10,0	7,700	59,4

Indien een monsterextract storende verbindingen bevat, dan blijkt bij nitraatconcentraties beneden  $0,1 \text{ mmol.l}^{-1}$  de nitraatelektrodepotentiaal in afnemende mate te reageren op verlagingen van het nitraatgehalte.

Om de omvang van deze afwijking te registreren en ter vergelijking van twee typen nitraatelektroden, ORION 92-07 en 93-07, met de nitraatbepaling over nitriet en sulfanylamide-naftylethyleendiamine zijn enkele series analyses uitgevoerd.

Een aantal ijklijnen is gemeten met de nitraatelektrode 92-07 en 93-07:

- a. zonder toevoegingen;
- b. met toevoeging van  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 2 ml van een  $2 \text{ mol.l}^{-1}$   $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - per 100 ml meetoplossing, dat is 528,4 mg  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  per 100 ml meetoplossing;
- c. met toevoeging van  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ , 1,666 g  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18 \text{ H}_2\text{O}$ , 0,124 g  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 0,467 g  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  en 0,243 g  $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$  per 100 ml meetoplossing en op pH 3 gebracht met  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ;
- d. met toevoeging van natriumcitraat, 0,520 g natriumcitraat per 100 ml meetoplossing;
- e. met toevoeging van een extract van 1 g gemalen standaard grasmonster 1977 lab nr. 66986, per 100 ml meetoplossing;
- f. met een combinatie van b en d en van c en d.

### Resultaten

In tabel I zijn de meetresultaten gegeven van nitraatijklijnen gemeten met twee nitraatelektroden na toevoeging van een ammoniumsulfaatoplossing (b), een citraatoplossing (d) of een gewasmonsterextract. De citraatoplossing is toegevoegd in een hoeveelheid die overeenkomt met een maximale in het monster te verwachten hoeveelheid carboxylaat. De EMK is in mV gemeten, en daarna in pH-eenheden omgerekend op basis van de instelpunten  $10,0 \text{ mmol.l}^{-1} = \text{"pH"} 7,700$  en  $1 \text{ mmol.l}^{-1} = \text{"pH"} 6,700$ . Op deze wijze is de omvang van de invloed van de diverse toevoegingen op de EMK te bepalen. De metingen zijn binnen een dag uitgevoerd. De gegevens van tabel I zijn grafisch weergegeven in fig. 1 en fig. 2. Opvallend is dat de EMK van het elektrodenpaar bij een bepaalde nitraatconcentratie toeneemt met zouttoevoegingen en dat dan de gevoeligheid, de helling, vooral bij lagere nitraatconcentraties afneemt.

In tabel II zijn de meetresultaten vermeld van een overeenkomstige serie oplossingen, na toevoeging van ammoniumsulfaat (b) respectievelijk aluminium-

sulfaat (c) en citraat (d). De resultaten zijn uitgezet in fig. 3. Uit fig. 1 en 2 blijkt dat citraattoevoeging (d) een extra invloed heeft op het meetresultaat, die bij lagere nitraatconcentraties additioneel aan de door toevoeging van ammoniumsulfaat verkregen EMK-stijging aanwezig blijft.

Bij nitraatconcentraties boven  $0,1 \text{ mmol.l}^{-1}$  liggen de curves van nitraat + ammoniumsulfaat en nitraat + aluminiumsulfaat relatief dicht bij elkaar, de citraatstoring wordt hier doeltreffend opgeheven.

Bij nitraatconcentraties beneden  $0,03 \text{ mmol.l}^{-1}$  is echter de helling van de ijklijn zo gering geworden dat geen redelijke meetresultaten te verwachten zijn.

De invloed van een verschil in samenstelling van de meetoplossing respectievelijk ijkoplossing op het meetresultaat is onderzocht door een aantal monsters met lage nitraatgehalten onder verschillende omstandigheden te meten. De resultaten van deze metingen, die zijn uitgevoerd ten opzichte van de in tabel I en II gegeven ijklijnen, zijn vermeld in tabel III.

Wanneer de aflezingen ten opzichte van ijklijnen zonder enige toevoeging en met toevoeging van ammoniumsulfaat of aluminiumsulfaat met citraat buiten beschouwing worden gelaten, dan blijkt een meting met een detectielimiet van ca.  $0,01 \text{ mmol.l}^{-1}$  mogelijk te zijn, dat is bij extractie van 1 g ds in 100 ml oplossing 1 mmol  $\text{NO}_3^-$  per kg ds of 0,014 g N- $\text{NO}_3$  per kg ds.

Er is geen duidelijk verschil tussen de resultaten verkregen met  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  of  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  toevoeging. Met  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  stelt de aflezing zich trager in, door reductie van de in laatstgenoemde oplossing aanwezige zilverionen treedt een onaangename vervuiling van glaswerk en elektroden op. Toepassing van  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  heeft daarom de voorkeur.

De met de elektrode verkregen uitkomsten zijn significant hoger dan de uitkomsten verkregen met de diazoteringsmethode na reductie tot nitriet. Het is bekend dat de nitrietmethode gestoord wordt door in het monster aanwezige suikers, deze zijn daarom uit het extract verwijderd door behandeling met kopersulfaat en kalkmelk. Bij hogere nitraatconcentraties zijn de uitkomsten van de meting via de elektrode en via nitriet gelijk.

Het probleem van de keuze van een geschikte oplossing ter compensatie van verschillen in ionensterkte tussen meetoplossing en ijkcurve vervalst wanneer de ijklijn wordt ingebouwd in het monsterextract.

In tabel IV zijn de uit de meetresultaten van tabel I en II berekende nitraatgehalten van een aantal metingen van het standaard grasmonster 1977 gegeven. Het gemiddelde van alle op deze wijze in monster 1977 gevonden gehalten is  $0,159 \text{ mmol.l}^{-1}$ , dat is 15,9 mmol nitraat per kg ds of 0,223 g N- $\text{NO}_3$  per kg ds.

Deze uitkomst is in goede overeenstemming met de in tabel III via rechtstreekse metingen met de elektrode gevonden resultaten. De colorimetrische methode gaf een te lage uitkomst.

De rechtstreekse meting, met toevoeging van  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  aan meetoplossingen en ijkoplossingen voldoet dus aan redelijke eisen van betrouwbaarheid.

De voor het nitraatgehalte van het monster gecorrigeerde ijkcurven van de monsterextracten + toevoegingen zijn te zamen met de overeenkomstige ijklijnen zonder monstertoevoeging weergegeven in fig. 4.

Uit deze figuur blijkt dat zonder meer tot een gehalte van  $0,15 \text{ mmol.l}^{-1}$  in een gewasextract kan worden gemeten. Er zijn geen aanwijzingen dat metingen tot enigszins lagere concentraties onmogelijk zijn. Deze grens ligt echter bij een tienmaal hogere concentratie dan die welke uit de meting van ijklijnen werd vastgesteld.

### Conclusie

De bepaling van het nitraatgehalte in gewasextracten met de ORION nitraatselectieve membraanelektrode 93-07 is mogelijk voor nitraatgehalten vanaf  $0,10 \text{ mmol}$  per liter oplossing indien aan  $100 \text{ ml}$  meetoplossing respectievelijk ijkoplossing  $528,4 \text{ mg } (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  wordt toegevoegd. De detectielimiet is ca.  $0,02 \text{ mmol}$  per liter, berekend uit tweemaal de standaardafwijking. De aflezing van een nitraatvrije ijkoplossing is gelijk aan de aflezing van een  $0,01 \text{ mmol.l}^{-1}$ -oplossing (fig. 2). Op deze wijze bepaald is de detectielimiet dus  $0,01 \text{ mmol.l}^{-1}$ . Met de nitraatanalyse-automaatanalyse via nitriet worden beneden  $0,2 \text{ mmol NO}_3.\text{l}^{-1}$  te lage uitkomsten verkregen ook indien de monsters worden ontsuikerd met koper-sulfaat-kalkmelk.

### Samenvatting

De invloed van de samenstelling van het gewasmonster en van de samenstelling van de extractievloeistof op de uitkomsten van de nitraatbepaling is onderzocht, voor monsters met lage nitraatgehalten. De resultaten zijn vergeleken met de uitkomsten van de nitraatbepaling volgens de sulfanilamide-diazotering na reductie van nitraat met hydrazine tot nitriet.

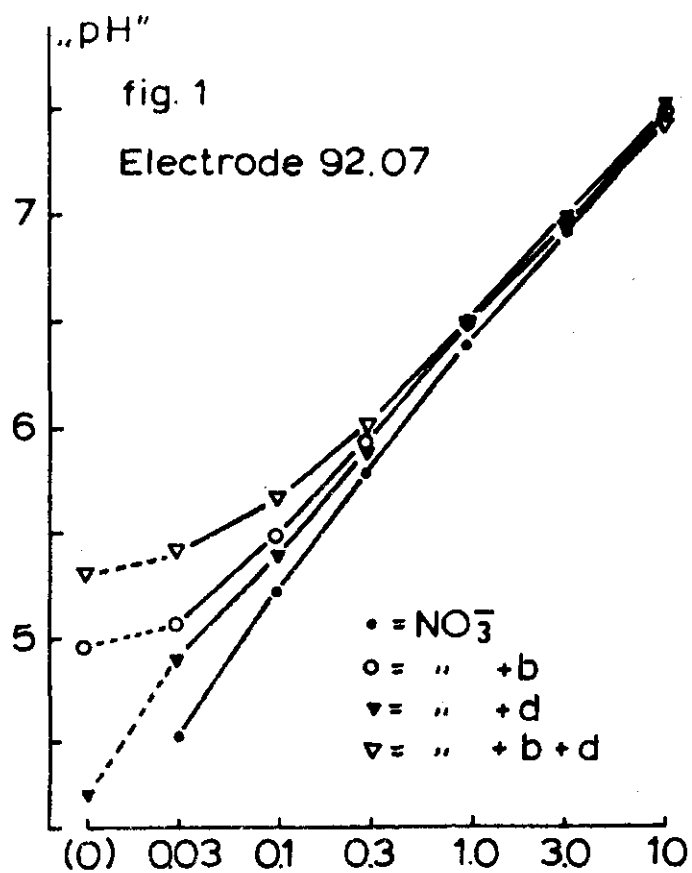


Fig. 1.

Meetwaarden van nitraatoplossingen met toevoeging van ammoniumsulfaat (b) en/of citraat (d). Nitraatelektrode ORION 92-07. Gegevens uit tabel I.

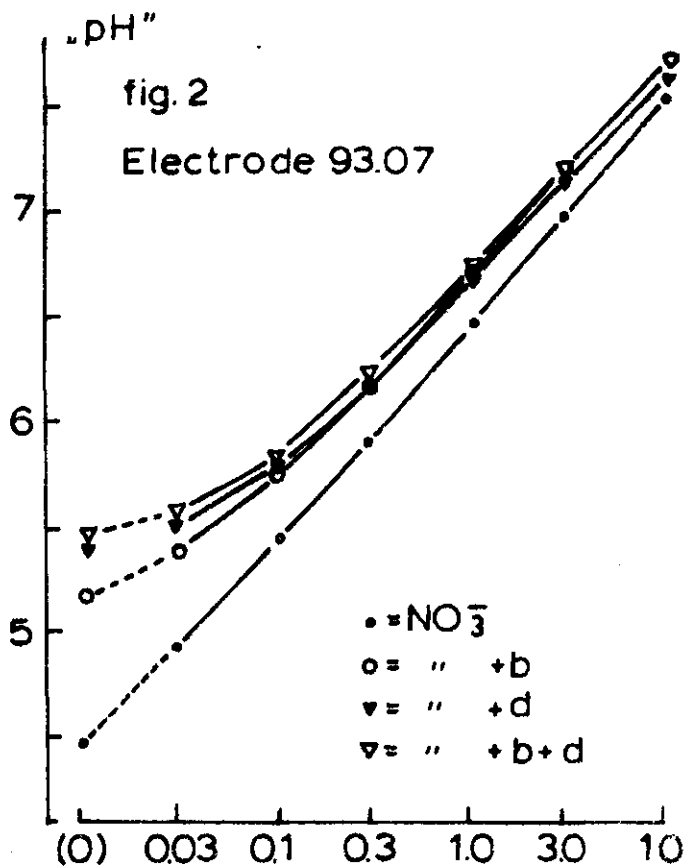


Fig. 2.

Meetwaarden van nitraatoplossingen met toevoeging van ammoniumsulfaat (b) en/of citraat (d). Nitraatelektrode ORION 93-07. Gegevens uit tabel I.



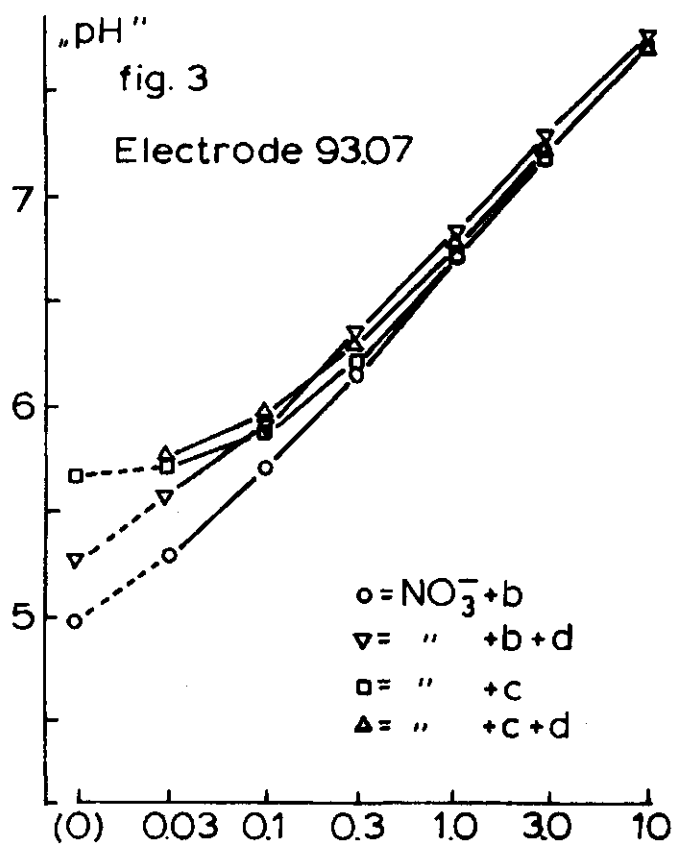


Fig. 3.  
Meetwaarden van nitraatoplossingen met toevoeging van ammoniumsulfaat (b), aluminiumsulfaat (c) en citraat (d). Gegevens uit tabel II.

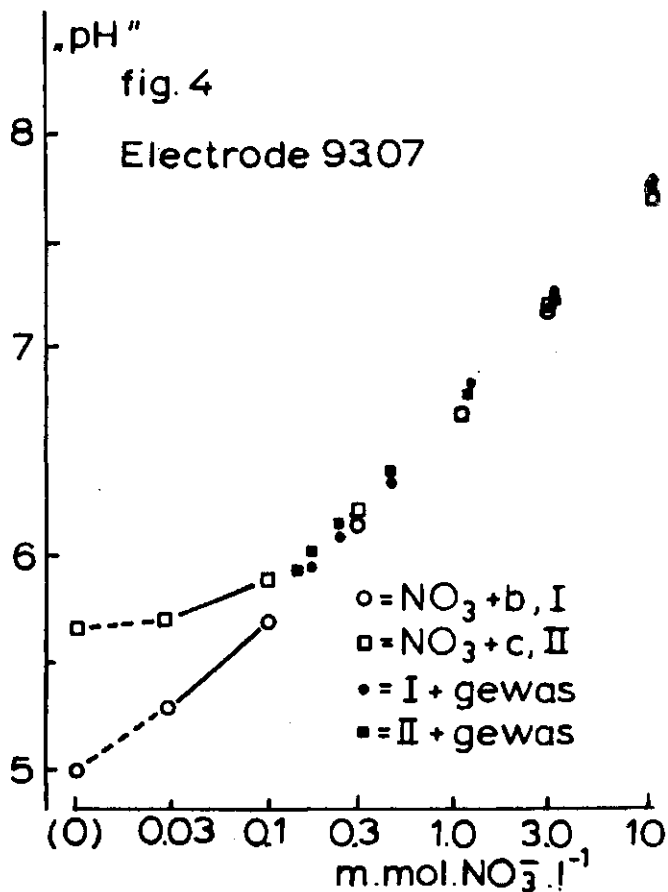


Fig. 4.  
Meetwaarden van nitraatoplossingen met toevoeging van ammoniumsulfaat (b) en aluminiumsulfaat (c) met en zonder toevoeging van grasextract, standaard monster 1977.  
De ijklijnpunten met toegevoegd grasextract zijn gecorrigeerd voor het nitraatgehalte van het monster, 16 mmol.kg<sup>-1</sup>.

Tabel I.

Relatieve meetwaarden verkregen met de nitraatelektroden 92-07 en 93-07 van nitraatoplossingen met toevoeging van  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  (b) en/of citraat (d) of een grasmonster. Gemeten ten opzichte van instelpunten 10 en  $1 \text{ mmol.l}^{-1}$  nitraat met elektrode 93-07 en ammoniumsulfaattoevoeging.

	Zonder toevoeging van $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$		Met toevoeging van $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (b)	
	elektrode	elektrode	elektrode	elektrode
$\text{NO}_3^- \text{ mmol.l}^{-1}$	93-07	92-07	93-07	92-07
0	4,410	3,714	5,148	4,934
0,03	4,893	4,512	5,334	5,045
0,1	5,405	5,210	5,721	5,471
0,3	5,893	5,790	6,172	5,922
1,0	6,450	6,390	6,700	6,462
3,0	6,906	6,909	7,162	6,945
10,0	7,541	7,466	7,700	7,469
$\text{NO}_3^- + \text{citraat (d)}$				
0	5,371	4,198	5,426	5,288
0,03	5,462	4,871	5,529	5,378
0,1	5,750	5,371	5,798	5,636
0,3	6,138	5,898	6,203	5,983
1,0	6,655	6,466	6,703	6,457
3,0	7,112	6,964	7,178	6,917
10,0	7,640	7,495	7,691	7,436
$\text{NO}_3^- + 1 \text{ g gras 1977 per } 100 \text{ ml (e)}$				
0 + $\text{NO}_3^-$ uit monster	5,610	5,853	5,821	5,838
0,03+ $\text{NO}_3^-$ uit monster	5,721	5,864	5,884	5,860
0,1 + $\text{NO}_3^-$ uit monster	5,871	5,943	6,064	5,948
0,3 + $\text{NO}_3^-$ uit monster	6,171	6,147	6,319	6,128
1,0 + $\text{NO}_3^-$ uit monster	6,598	6,564	6,760	6,510
3,0 + $\text{NO}_3^-$ uit monster	7,059	7,007	7,233	6,947
10,0 + $\text{NO}_3^-$ uit monster	7,593	7,503	7,736	7,460

Tabel II.

Meetwaarden verkregen met de nitraatelektrode 93-07 met toevoeging van  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{Al})_2(\text{SO}_4)_3$  en citraat en/of het standaard grasmonster 1977.

$\text{NO}_3^-$ mmol.l <sup>-1</sup>	Met toevoeging van $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (b) "pH"	Met toevoeging van $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ etc. (c) "pH"
0	4,940	5,650
0,03	5,289	5,723
0,1	5,700	5,911
0,3	6,169	6,218
1,0	6,700	6,700
3,0	7,201	7,176
10,0	7,701	7,700
<u><math>\text{NO}_3^-</math> + citraat</u>		
0	5,250	-
0,03	5,556	5,744
0,1	5,914	5,953
0,3	6,326	6,284
1,0	6,797	6,739
3,0	7,258	7,203
10	7,735	7,713
<u><math>\text{NO}_3^-</math> + 1 g gras 1977 per 100 ml</u>		
0 + $\text{NO}_3^-$ in monster	5,820	5,948
0,03+ $\text{NO}_3^-$ in monster	6,967	6,920
0,1 + $\text{NO}_3^-$ in monster	6,103	6,154
0,3 + $\text{NO}_3^-$ in monster	6,384	6,394
1 + $\text{NO}_3^-$ in monster	6,812	6,777
3 + $\text{NO}_3^-$ in monster	7,245	7,212
10 + $\text{NO}_3^-$ in monster	7,765	7,726

Tabel III.

Nitraatgehalten van een aantal monsters bepaald met twee elektroden in meetoplossingen van verschillende samenstelling ten opzichte van ijklijnen met overeenkomstige toevoegingen. Citraat is alleen aan de ijkoplossingen toegevoegd, niet aan de monsters. De oplossingen bevatten 1 g monster per 100 ml.

De resultaten zijn berekend als mmol  $\text{NO}_3^-$  per liter meetoplossing.

Elektrode	Samenstelling meetoplossing	3590	3597	66986	76852	76853	83376	83684	84033	84177
92-07	$\text{NO}_3^-$			0,34	0,74	0,44				
	$\text{NO}_3^+(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4^x$			0,24	0,56	0,34				
	$\text{NO}_3^+(\text{+ citraat})^x$			0,28	0,61	0,36				
	$\text{NO}_3^+(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (+ citraat)			0,19	0,54	0,29				
93-07 I	$\text{NO}_3^-$			0,16	0,71	0,32				
	$\text{NO}_3^+(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4^x$	0,097	0,142	0,13	0,61	0,24	0,038	0,264	0,276	0,205
	$\text{NO}_3^-(\text{+citraat})^x$			0,13	0,58	0,26				
	$\text{NO}_3^+(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (+ citraat)			0,11	0,60	0,22				
93-07 II	$\text{NO}_3^+(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4^x$	0,15	0,17	0,13	0,65	0,29	0,041	0,40	0,35	0,23
	$\text{NO}_3^+(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (+ citraat)	0,07	0,06	0,051	0,36	0,16	negat.	0,18	0,17	0,10
	$\text{NO}_3^+\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3^x$	0,12	0,15	0,12	0,62	0,35	0,030	0,32	0,37	0,24
	$\text{NO}_3^+\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (+ citraat)	0,075	0,10	0,08	0,47	0,23	0,010	0,22	0,28	0,15
	Bepaling via hydrazine- nitriet na ontsuikeren met kopersulfaat-kalkmelk	0,08	0,12	0,08	0,53	0,18	0,010	0,27	0,28	0,17
	Gem. van alle waar- nemingen	0,099	0,124	0,158	0,591	0,283	0,026	0,276	0,288	0,182
	SH	0,031	0,039	0,084	0,102	0,079	0,015	0,077	0,070	0,053
	SZ	31	32	53	17	28	58	28	24	29
	Gem. resultaat van metingen onder nor- male, met x gemerkte condities	0,122	0,154	0,170	0,622	0,307	0,036	0,328	0,332	0,225
	S	0,026	0,014	0,068	0,041	0,050	0,006	0,068	0,050	0,018
	SZ	22	9	39	7	16	16	21	15	8

Tabel IV.

Nitraatgehalte in de meetoplossing van het monster gras 1977, verkregen door 1 g monster in 100 ml oplossing te extraheren. Aan de extracten zijn toegevoegd verschillende hoeveelheden nitraat alsmede ammoniumsulfaat respectievelijk aluminiumsulfaatoplossing.

Getabelleerd zijn de nitraatgehalten verkregen door van de gehalten afgelezen van de betreffende ijklijn de toegevoegde hoeveelheden nitraat af te trekken. De gegevens zijn afkomstig uit tabel I en II. Aan de monsteroplossing is geen citraat toegevoegd.

Toegevoegd $\text{NO}_3^-$ mmol.l <sup>-1</sup>	$\text{NO}_3^-$ in monster gras 1977, mmol.l <sup>-1</sup> bij 1 g in 100 ml			
	elektrode 93.07		elektrode 92.07	
	in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (b)	in $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (c)	in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (b)	
0	0,13	0,13	0,13	0,24
0,03	0,12	0,15	0,13	0,22
0,1	0,12	0,15	0,15	0,22
0,3	0,12	0,18	0,17	0,17
1,0	0,50 <sup>x</sup>	0,25	0,15	0,10
3	-	0,40 <sup>x</sup>	0,30 <sup>x</sup>	-
10	-	-	-	-

gemiddeld, zonder<sup>x</sup>, 0,159 mmol.l<sup>-1</sup>