

Quantitatieve bepaling van ammoniak in zeewater,
volgens de fenol-hypochloriet methode

door

R.W.P.M. Laane

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLICATIES EN VERSLAGEN

nummer 1973-5

13009

Quantitatieve bepaling van ammoniak in zeewater,
volgens de fenol-hypochloriet methode

door

R.W.P.M. Laane

Intern verslag

over

werkzaamheden verricht als bijvak studie
in het tijdvak mei 1972 - november 1972

aan

het NIOZ te Texel

onder supervisie van

Drs. W. Helder

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLICATIES EN VERSLAGEN:

nummer 1973-5

...individuele...
...van de...
...van de...

...van de...
...van de...

Rechten voorbehouden

Van interne verslagen zijn nadruk of aanhalingen slechts toegestaan met uitdrukkelijke toestemming van het NIOZ.

...van de...
...van de...
...van de...

Inhoud

I. QUANTITATIEVE BEPALING VAN AMMONIAK IN ZEEWATER VOLGENS DE FENOLHYPOCHLORIET METHODE.	2
a. Motivering	2
b. Inleiding	2
c. Toepassing van de bepaling op zeewater	3
d. Voorschrift van Koroleff en Solarzano	5
II. EXPERIMENTELE GEDEELTE VAN DE AMMONIAK BEPALING VOLGENS DE FENOLHYPOCHLORIET METHODE VAN KOROLEFF EN SOLARZANO.	7
a. Lineair verband tussen concentratie ammoniak en de extinctie	7
b. Invloed van het zoutgehalte	8
c. Het spectrum van indofenol van 500-700 nm	9
d. De tijd die noodzakelijk is voor een optimale kleuring van indofenol	9
e. Variatie van de fenol-concentratie	9
f. Conclusies uit het voorschrift van Koroleff	10
III. WIJZIGINGEN VAN HET KOROLEFF-SOLARZANO VOORSCHRIFT	11
a. Verzadigd buffersysteem t.o.v. het onverzadigde buffersysteem	11
b. Variatie van citraat en natriumhydroxide ten opzichte van elkaar	13
c. Lineair verband tussen concentratie ammoniak en de extinctie	15
d. Invloed van het zoutgehalte	15
e. Het tegengaan van neerslagen bij hoge temperaturen	16
IV. EINDCONCLUSIES MET VOORSCHRIFT	18
V. LITERATUUR OVERZICHT	20

I. DE QUANTITATIEVE BEPALING VAN AMMONIAK IN ZEEWATER VOLGENS DE HYPOCHLORIET-FENOL METHODE

a. Motivering

Voor de bestudering van de stikstofcyclus in zeewater is het van belang om de ammoniak-concentratie op een eenvoudige en nauwkeurige manier te kunnen bepalen. De rol die ammoniak speelt in de stikstofcyclus wordt in het volgende schema (uit het doctoraal verslag van A.J. Beintema 1968) aangegeven (zie Fig. 1).

Vele analytische methoden zijn ontwikkeld om ammoniak te bepalen, maar meestal bleek een scheiding van ammoniak van het monster door middel van destillatie (1, 2) of chemische extractie (3) nodig. Deze analyse-methoden zijn niet geschikt voor het routine-werk aan boord en zijn bovendien niet eenvoudig om te werken tot geautomatiseerde procedures.

b. Inleiding

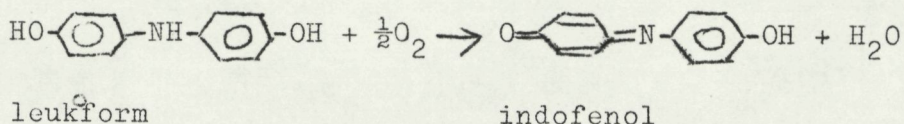
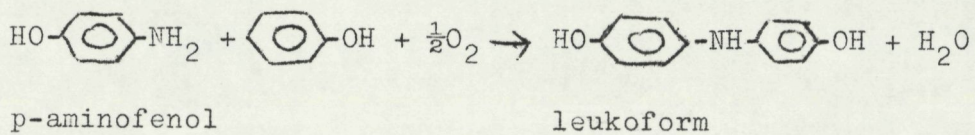
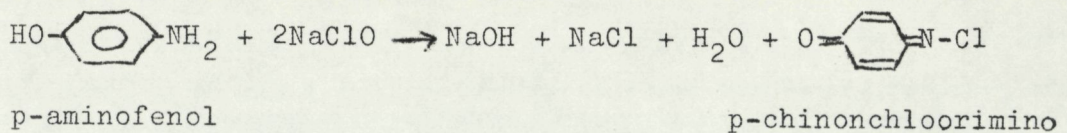
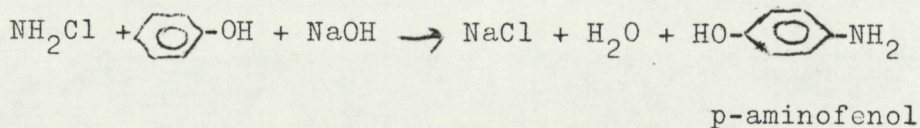
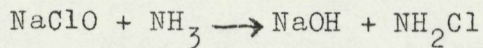
De meest eenvoudige manieren voor de bepaling van ammoniak zijn tegenwoordig de fenol-hypochloriet en de Procházková methoden. Beide zijn geschikt voor gebruik aan boord en worden toegepast in auto-analyzer systemen (4, 5, 6).

De methode van Procházková is een spectrofotometrische bepaling van ammoniak dat gekoppeld wordt met rubazoic zuur en bispyrazolon in de aanwezigheid van chlooramine T.

De meest belovende resultaten waren naar mijn mening te verwachten van de fenol-hypochloriet methode, die bovendien reeds enkele jaren op het NIOZ werd toegepast.

De fenol-hypochloriet methode:

De blauwe kleur van indofenol die verkregen wordt door de reactie bestudeerd nadat Berthelot (7) in 1859 deze reactie naar voren bracht. De analytische techniek werd geïntroduceerd door P. Thomas (8).



In de eerste stap ontstaat voornamelijk het monochlooramine (chlooramide). Door bij een juiste pH te werken kan de vorming van NHCl_2 en NCl_3 worden voorkomen (9, 10).

In de tweede stap reageert fenol met chlooramide tot het p-amino-fenol. Men mag aannemen dat dit product ontstaat omdat alle (niet op de paraplaats gesubstitueerde) fenolen met chlooramide een reactie geven tot p-aminifenol-derivaten.

P-aminofenol vormt in een basisch milieu met een overvloed aan fenol snel indofenol (stap 4 en 5 in het reaktieschema). Hypochloriet hoeft voor het plaatsvinden van deze stappen niet aanwezig te zijn, maar als het er is versnelt het de reactie.

Doordat hypochloriet een versnellende werking heeft kan men waarschijnlijk de vorming van p-chinonchloorimin aannemen (11), dat

na koppeling met fenol in basisch milieu indofenol geeft.

Guilbault en medewerkers herleidden de koppeling van beide aromaten en daarmee de indofenolvorming tot een nucleofiele aanval van het fenolaation op het elektrofiële stikstofatoom van het chinonimine. Iets dergelijks kan men zich ook voorstellen bij de vorming van leukoform uit p-aminofenol en fenol (12).

Voor een grote gevoeligheid heeft de reactie of een hoge temperatuur of een katalysator nodig. Als katalysatoren werden mangaan, zilver, ijzer en koperionen gebruikt (13). In 1954 stelden Lubochinsky en Zalta (14) natrium nitroprusside voor als een katalysator die een hoge gevoeligheid aan de reactie gaf.

In natrium nitroprusside (natrium pentacyanonitrosylferraat (III)) $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}\cdot\text{H}_2\text{O}$, heeft het NO-ion een positieve lading en is het ijzerion 3-waardig.

c. Toepassingen van de fenol-hypochloriet bepaling in zeewater:

Toen Riley (1) de fenol-hypochloriet methode toepaste op zeewater om ammoniak aan te tonen, bleken neerslagen van calcium- en magnesiumhydroxide te ontstaan, die niet konden worden tegengegaan door het gebruik van EDTA.

Koroleff (13) beschreef een fenol-hypochloriet bepaling voor zeewater, maar ook hij kreeg neerslagen van calcium- en magnesiumhydroxide.

Roskam en de Lange (15) komplexeerden de calcium- en magnesiumionen met CDTA, hetgeen de neerslagen van calcium- en magnesiumhydroxide voorkwam.

Na vele onderzoeken bleek dat de kleuring van fenol, hypochloriet en ammoniak evenredig was met de hoeveelheid ammoniak en dat de reactie sneller verloopt in een buffersysteem.

Solarzano (16) gebruikte daarom een citraat-natriumhydroxide buffer die bovendien de neerslagen van calcium- en magnesiumhydroxide voorkwam, doordat citraat magnesium- en calciumionen komplexeert.

De vorming van indofenol verloopt bij een hoge pH-waarde. Als mengsel van fenol en hypochloriet in een gebufferde oplossing aan zeewater, dat bromide ionen bevat, wordt toegevoegd, dan ontstaat het bruine broomfenol (waarschijnlijk door middel van het hypobromie intermediair). Deze vorming kan worden tegengegaan door toevoeging van natriumhydroxide. Natriumhydroxide versnelt ook nog de reactie

doordat in basisch milieu natriumfenolaat een buffersysteem vormt met fenolaationen.

Voor het geschikt maken van de bepaling voor zeewater met auto-analyzer technieken is het noodzakelijk dat de neerslagen van calcium- en magnesiumhydroxide vermeden worden. Bij hogere temperaturen, noodzakelijk voor een snelle reactie, is de oplosbaarheid van calcium- en magnesiumhydroxide echter nog kleiner dan bij kamertemperatuur.

Concluderend bleek dat bij de toepassing van de fenol-hypochloriet methode voor de quantitative bepaling van de hoeveelheid ammoniak in zeewater, de volgende problemen dienden to worden opgelost.

1. Het tegengaan van neerslagen van calcium- en magnesiumhydroxide.
2. Het "zouteffect". Hieronder wordt verstaan dat de variatie in zoutgehalte van het zeewater gepaard gaat met een variatie in de pH-waarde, van het reaktiemengsel terwijl de vorming van indofenol pH afhankelijk is.
3. Het trage verloop van de reactie bij kamertemperatuur.

Mijn taak was een buffersysteem te vinden dat de pH-variatie tegengaat en tegelijkertijd de neerslagen voorkomt, ook bij hoge temperatuur.

d. Voorschrift van Koroleff en Solarzano.

In het NIOZ werd tot nu toe het voorschrift gebruikt van Solarzano (16) voor de quantitative bepaling van ammoniak in zeewater.

Voor de meeste bepalingen in het begin van het experimentele gedeelte van dit verslag werd dit voorschrift gebruikt. Als bij een proef een ander reagens gebruikt is staat dit  erbij geschreven.

Voorschrift:

Reagens A. 35 gram fenol (licht rose kleur mag)

400 mgr natrium nitroprusside

eindvolume 1000 ml ammoniak-vrije aqua-bidest.

In een bruine fles is deze oplossing stabiel gedurende weken. Als de oplossing groen begint te worden moet deze vernieuwd worden.

Reagens B. voor zoutgehalten van 35‰ - 5‰ :

140 gram citraat

11 gram natriumhydroxide

8 ml natriumhypochloriet (1N hypochloriet in 0,1N
natriumhydroxide)

eindvolume 400 ml ammoniak-vrije aqua-bidest

voor zoutgehalten van 5‰ - 0‰ :

140 gram citraat

7 gram natriumhydroxide

8 ml natriumhypochloriet

eindvolume 400 ml ammoniak-vrije aqua-bidest.

De sterkte van de hypochloriet oplossing werd als volgt bepaald:

Voeg aan 1,0 ml natriumhypochloriet 50 ml vers gemaakte 1% kaliumiodide oplossing toe. De oplossing wordt zuur gemaakt met 0,25 ml geconcentreerde zoutzuur. De vrije jodideionen worden met een 0,1 N thiosulfaat oplossing teruggetitreerd waarbij de indicator stijfsel is.

(1 ml thio komt overeen met 3,5 mgr actief chloor).

Monster:

Twee reageerbuizen worden gevuld met 10 cm³ monster. Aan 1 van de buizen wordt een standaard-toevoeging gedaan met behulp van een eppendorff pipetten (50 μ l). De oplossing die hiervoor gebruikt wordt bevat 66,07 mgr (NH₄)₂SO₄ per liter en geeft een concentratieverhoging van 5 μ gat per liter aan het reaktiemengsel.

Eerst wordt een $\frac{1}{2}$ ml reagens A toegevoegd en na goed schudden een $\frac{1}{2}$ ml reagens B. Na weer goed geschud te hebben worden de buisjes afgesloten met parafilm en in het donker weggezet. Na 6 uur in het

donker gestaan te hebben kan de extinctie bij 630 nm gemeten worden.

berekening ammoniak concentratie in μgat per liter:

$$\frac{(\text{extinctie monster} - \text{extinctie blanco})}{\text{extinctie}(\text{monster} + \text{standaard toevoeging}) - \text{extinctie monster}} = \mu\text{gat per liter}$$

II. EXPERIMENTELE GEDEELTE VAN DE AMMONIAK BEPALING VOLGENS DE FENOL-HYPOCHLORIET METHODE VAN KOROLEFF-SOLARZANO.

a. Lineair verband tussen ammoniak concentratie en de extinctie

Om te kijken hoe hoog de concentraties van ammoniak (indofenol) kan zijn om nog aan de wet van Lambert-Beer te voldoen voegde ik aan buisjes waarin reeds 10 cm^3 standaard zeeewater (35‰ S) zat een standaard ammoniak oplossing toe die respectievelijk een verhoging van 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, μgat per liter gaf in het reaktiemengsel. Na reagens A en B toegevoegd te hebben stonden ze een nacht in het donker en gaven ze de volgende extincties in 1 cm cellen.

Extra $\mu\text{gat}/_1$	Ext. bij 630 nm	Extra $\mu\text{gat}/_1$	ext. bij 630 nm
0	0.038	25	0.447
5	0.095	30	0.533
10	0.189	40	0.672
15	0.281	50	0.813
20	0.365	60	0.951

De extinctie-waarden zijn gemiddelden van duplo's. De duplo's hadden een variatie van ± 0.004 .

De molaire extinctie die hieruit volgt is 18800. Koroleff (13) vond

een molaire extinctie van ca 21000.

Uit Fig. 2 blijkt een lineair verband tussen concentratie en extinctie tot ca 30 μ gat per liter ammoniak.

Daar deze concentratie bijna nooit voorkomt in zeewater is de methode voor het bepalen van ammoniak in zeewater geschikt.

De invloed van het zoutgehalte op de bepaling wordt in het volgende hoofdstuk beschreven.

b. Invloed van het zoutgehalte

Water van verschillend zoutgehalte werd verkregen door standaard zeewater (35‰ S) te verdunnen met aqua-bidest. De exacte zoutgehalten werden bepaald door een titratie uit te voeren met zilver-nitrat volgens het voorschrift van J.D.H. Strickland & T.R. Parsons A practical Handbook of Seawater Analysis (Blz. 11-17).

Extra μ gat/l	Zoutgehalten					
	34,56‰	26,10‰	23,17‰	17,16‰	11,78‰	8,78‰
0	0.011	0.018	0.019	0.019	0.016	0.013
10	0.198	0.202	0.205	0.205	0.209	0.213
20	0.377	0.397	0.391	0.399	0.391	0.397
30	0.558	0.580	0.575	0.587	0.553	0.573
40	0.710	0.770	0.762	0.762	0.726	0.747
50	0.903	0.921	0.921	0.941	0.892	0.895

Zie Figuur 3

De extincties zijn gemiddelden van duplo's en zijn alle gecorrigeerd met de blanco waarden van het desbetreffende zoutgehalte.

De gemiddelde afwijkingen (%) zijn voor:

10	μ gat	7%
20	"	6,5%
30	"	5,8%
40	"	6,8%
50	"	5,9%

c. Het spectrum van indofenol van 500-700 nm

Koroleff (13) stelde vast dat de maximale absorptie van indofenol bij 630 nm lag. Aan een buisje waarin 10 cm^3 substandaard zeewater zat, 35‰ S deed ik een toevoeging van 50 μg at per liter ammoniak oplossing. Na reagens A en B toegevoegd te hebben nam ik het spectrum, na een nacht staan, op van 500-700 nm (Zie Fig. 4).

d. De tijd die noodzakelijk is voor een optimale kleurontwikkeling van indofenol

Deze proef voerde ik uit door aan 10 cm^3 substandaard zeewater een extra toevoeging te doen van ca 30 μg at per liter van een ammoniakale oplossing.

Na reagens A en B toegevoegd te hebben werd het mengsel direkt in een 1 cm kuvet gedaan.

Om het kwartier werd de absorptie automatisch gemeten ten opzichte van een referentie kuvet die gevuld was met aqua-bidest. Het verloop van de kleurontwikkeling werd aangegeven op een recorder.

De kuvet was afgesloten met parafilm en de afwijking van de spectrofotometer was na 82 uur ± 0.001 .

Koroleff (13) geeft op dat er na 6 uur reeds gemeten kan worden. Nadat ik deze bepaling gedaan had heb ik de verdere extincties allen na ca 25 uur gemeten om de fout die ontstaat tussen 6 uur en 25 uur (2,1%) te nihilieren (Zie Fig. 5).

e. Variatie van de fenol-concentratie

Wanneer de reagentia A en B te geconcentreerd zijn geeft dit een enorme verhoging van de blanco extinctie-waarde. Om deze zo klein mogelijk te houden varieerde ik de fenol concentratie van 9,6 $\cdot 10^{-3}$ tot $25 \cdot 10^{-3}$ mM.

Voor reagens B gebruikte ik 70 gram citraat
 5,6 gram natriumhydroxide
 27,5 ml natriumhypochloriet
 eindvolume 250 ml aqua-bidest

De variatie was als volgt:

A : 2 gram fenol, 40 mgr Na prusside, eindvolume 100 ml
 B : 2,5 gram fenol, 40 mgr Na prusside, eindvolume 100 ml
 C : 3 gram fenol, 40 mgr Na prusside, eindvolume 100 ml
 D : 3,5 gram fenol, 40 mgr Na prusside, eindvolume 100 ml
 E : 4 gram fenol, 40 mgr Na prusside, eindvolume 100 ml
 F : 5 gram fenol, 40 mgr Na prusside, eindvolume 100 ml

Extra μ gat/l	A	B	C	D	E	F
0	0.039	0.038	0.037	0.030	0.031	0.028
10	0.177	0.177	0.188	0.193	0.197	0.185
20	0.365	0.373	0.388	0.390	0.388	0.388
50	0.851	0.871	0.880	0.879	0.879	0.861

De extinctiewaarden zijn gecorrigeerd voor de blanco-waarden. Daar de fenol die ik gebruik vers gedestilleerd is (wit) en daar het blijkt dat het niet zo veel uitmaakt als men de fenol concentratie varieert tussen 30-35 gram fenol op 1 liter, nam ik 30 gram fenol als uiteindelijke concentratie voor mijn reagens A.

Stabiliteit van het reagens A.

Het reagens werd altijd in een donkere fles bewaard, in de koelkast. Na anderhalve maand was er nog geen groenkleuring opgetreden en gaf het reagens nog steeds de zelfde extinctiewaarden voor 20 μ gat/l als een vers reagens A.

f. Conclusies uit het voorschrift van Koroleff

1. extinctie versus concentratie is lineair tot 30 μ gat per liter.

2. invloed van het zoutgehalte is tot concentratie 30 μ gat per liter 6,4%.
3. uit het spectrum volgt dat de maximale absorptie van indofenol bij 630 nm ligt.
4. uit de tijd die ik gevolgd heb blijkt dat het beter is na 25 uur het monster door te meten.
5. de fenolconcentratie kan gevarieerd worden van 30-35 gram per liter. Het reagens is stabiel gedurende anderhalve maand, als het in het donker bewaard wordt in een ijskast.

In het volgende hoofdstuk probeerde ik dmv. variatie van de citraat en natriumhydroxide concentratie, de zoutfout zo klein mogelijk te maken en de neerslagen van calcium- en magnesiumhydroxide bij verhitting te voorkomen.

III. WIJZIGINGEN VAN HET KOROLEFF-SOLARZANO VOORSCHRIFT

- a. Verzadigd buffersysteem ten opzichte van het onverzadigde buffersysteem.

Verwarming van het reaktiemengsel volgens Koroleff en Solarzano leidde tot neerslagen.

Om neerslagen te voorkomen, stelde de Kok van het RIVO voor om reagens B te verzadigen met citraat.

Reagens B onverzadigd bestond uit: 140 gr citraat

11,2 gr natriumhydroxide
55 ml natriumhypochloriet
eindvolume 500 ml NH_3 -vrije
aqua-bidest

Reagens B verzadigd bestond uit:

94 gr citraat
5,6 gr natriumhydroxide
16 ml natriumhypochloriet
142 ml ammoniak vrije aqua-bidest

Variatie in de zoutgehalten werd op de zelfde manier verkregen als in de proef beschreven op (blz. 8).

De extincties zijn gemiddelden van duplo's en de waarden zijn gecorrigeerd voor de blanco (Zie Fig. 6).

Extra ugat/l	34,85 ‰ S	26,33 ‰ S	23,41 ‰ S	15,57 ‰ S	11,79 ‰ S	8,70 ‰ S
Onverzadigde B						
0	0.011	0.018	0.019	0.019	0.016	0.013
10	0.200	0.200	0.202	0.205	0.202	0.199
20	0.392	0.393	0.401	0.394	0.383	0.376
30	0.569	0.581	0.578	0.585	0.561	0.549
40	0.742	0.747	0.761	0.760	0.726	0.703
50	0.927	0.944	0.951	0.951	0.923	0.864
Verzadigde B						
0	0.013	0.021	0.021	0.020	0.018	0.014
10	0.205	0.204	0.199	0.199	0.194	0.196
20	0.395	0.393	0.393	0.380	0.362	0.370
30	0.579	0.576	0.575	0.563	0.538	0.542
40	0.743	0.751	0.757	0.741	0.687	0.681
50	0.937	0.946	0.954	0.909	0.864	0.849

Gemiddelde afwijkingen

Overzadigde B		Verzadigde B	
10 ugat/l	2,9%	10 ugat/l	4,4%
20	6,2%	20	8,3%
30	6,1%	30	7,0%
40	7,6%	40	10,0%
50	9,1%	50	11,6%

Er ontstonden geen neerslagen bij verwarmen bij gebruik van reagens B verzadigd met citraat, maar de gemiddelde fout in de bepaling werd groter.

Het verzadigde reagens B geeft ook moeilijkheden aan boord daar het

snel uitkristaliseert

b. Variatie van citraat en natriumhydroxide ten opzichte van elkaar. Door de citraatconcentratie en de natriumhydroxideconcentratie ten opzichte van elkaar te variëren probeerde ik het optimum van reagens B te zoeken (d.w.z. maximale kleurontwikkeling zonder vorming van neerslagen).

De citraat concentratie variatie was: 5, 10, 15, 20, 25 gram citraat per 50 ml reagens B.

De natriumhydroxide variatie was: 0,5; 0,7; 1,0; 1,2; 1,5; 1,7 gram natriumhydroxide per 50 ml reagens B.

Proef werd uitgevoerd met substandaard zeewater monsters (S ca. 35%).

Citraat variatie (gram)	Extra µgat/l	Natriumhydroxide variatie (gram)					
		0,5	0,7	1	1,2	1,5	1,7
5	0	0.010	0.011	-	-	-	-
	20	0.345	0.344	-	-	-	-
10	0	0.005	0.007	0.010	0.011	-	-
	20	0.327	0.340	0.375	0.361	-	-
15	0	0.010	0.006	0.009	0.011	0.012	0.011
	20	0.297	0.318	0.352	0.363	0.374	0.385
20	0	0.015	0.018	0.019	0.021	0.021	0.026
	20	0.292	0.318	0.346	0.350	0.371	0.382
25	0	0.006	0.009	0.009	0.018	0.010	0.010
	20	0.279	0.300	0.339	0.354	0.370	0.375

- = ontstonden neerslagen.

De extincties zijn gemiddelden van duplo's en zijn gecorrigeerd voor de blanco.

De pH's van de oplossingen waren:

Citraat variatie (gram)	Extra /ugat/l	Natriumhydroxide variatie (gram)					
		0,5	0,7	1	1,2	1,5	1,7
5	0-20	9,83	9.96	10.13	10.15	10.17	10.23
10	0-20	9,61	9,77	10.09	10.11	10.28	10.32
15	0-20	9.55	9.67	9.76	10.03	10.13	10.27
20	0-20	9.70	9.75	9.85	9.96	10.06	10.21
25	0-20	9.59	9.62	9.76	9.86	10.01	10.14

Daar de extinctie stijgt naarmate de NaOH- concentratie hoger werd en de extinctie van de 20 μ gat/l standaard daalt als het citraat-gehalte hoger werd, koos ik 20 gram citraat en 1,7 gram Na OH met 5,5 ml hypochloriet als reagens B.

Bij een hogere NaOH- concentratie ontstonden bij 2,5 gram NaOH en 20 gram citraat in 50 ml neerslagen.

Bij verwarmen (75°C) ontstonden bij de buisjes waar een NaOH- variatie was van 1-1,7 gram per 50 ml geen neerslagen en de extinctie was lineair met de concentratie tot 30 μ gat per liter.

Bij zoutgehalten beneden de 28% onstonden echter reeds bij kamertemperatuur neerslagen van calcium-en magnesiumhydroxide.

Om dit te voorkomen nam ik het volgende reagens B;

20 gram citraat

1,1 gram NaOH

5,5 ml NaOCl

eindvolume 50 ml ammoniak vrije aqua-bidest.

Het Koroleff en Solarzano voorschrift had de volgende concentraties;

17,5 gram citraat

1,4 gram NaOH

1 ml hypochloriet

eindvolume 50 ml ammoniak vrije aqua-bidest.

c. Lineair verband tussen concentratie ammoniak en de extinctie.

Reagens B bestond uit: 20 gram citraat

1,1 gram natriumhydroxide

5,5 ml natriumhypochloriet

eindvolume 50 ml aqua-bidest.

De bepalingen werd uitgevoerd met substandaard zeewater en de extinctie werd gemeten in 1 cm cellen.

Extra µgat/l	ext.
0	0.015
10	0.177
20	0.357
30	0.516
40	0.697
50	0.867
60	0.987

Uit Fig. 7 blijkt dat de extinctie lineair is met de concentratie tot 50 µgat per liter. Om te kijken of de kleuring maximaal was na 25 uur heb ik de reageerbuizen in een waterbad gezet (70°C) gedurende 5 min. Er waren geen veranderingen in de extinctie aantoonbaar.

d. Invloed van het zoutgehalte

De samenstelling van de reagentia was als in de voorafgaande proef.

De zoutgehalte variatie werd verkregen door substandaard zeewater te verdunnen met aqua-bidest.

$\frac{\mu\text{gat/l}}{\text{NH}_3}$	Zoutgehalten (‰ S)										
	35	31,5	28	24,5	21	17,5	14	10,5	7	3,5	0
0	0.011	0.011	0.012	0.012	0.014	0.016	0.016	0.020	0.019	0.018	0.01
10	0.189	0.191	0.192	0.192	0.194	0.202	0.203	0.204	0.202	0.201	0.19
20	0.377	0.377	0.385	0.390	0.391	0.397	0.409	0.404	0.403	0.399	0.39
30	0.547	0.550	0.558	0.562	0.567	0.572	0.585	0.5	0.594	0.590	0.59

pH's 9.61 9.67 9.74 9.84 9.88 9.97 10.05 10.18 10.21 10.47 10.

De extinctie zijn gemiddelden van duplo's en allen gecorrigeerd voor de blanco (Zie Figuur 8).

e. Het tegengaan van neerslagen bij hogere temperaturen.

Om te kijken of er calcium- en magnesiumhydroxide neerslagen ontstaan bij verwarmen zette ik een erlenmeyer Ia in een waterbad dat op 68 °C werd gehouden en voegde ik aan 50 cm³ substandaard zeewater 2½ ml reagens A en B toe.

Erlenmeyer IIa bevatte ook 50 cm³ substandaard zeewater en 2½ ml reagens A, maar reagens B bevatte in plaats van 20 gram citraat, 30 gram citraat en hiervan werd ook 2½ ml toegevoegd.

In erlenmeyer IIIa werd het volgende reagens B toegevoegd.

20 gram citraat
 7,0 gram EDTA
 1,1 gram natriumhydroxide
 5,5 ml natriumhypochloriet
 eindvolume 62 ml aqua-bidest.

Tijd in min.	Erlenmeyer		
	Ia	IIa	IIIa
5	0.172	0.141	-
10	0.243	0.228	-
15	0.263	0.251	-
20	0.270	0.262	0.084
25	0.277	0.267	-
35	0.277	0.269	0.118
45	0.278	0.272	0.135
55	0.278	0.273	0.149
65	0.280	0.273	0.159
75	0.279	0.272	0.165
90	0.279	0.273	0.178
110	0.279	0.273	0.189
130	0.280	0.275	0.196
200	0.285	0.277	0.207

pH van de oplossing 9.55 9.42 9.51

(Zie voor grafische weergave Fig. 9).

De extincties zijn afkomstig van een toevoeging van 20 ugat per liter.

Ook liet ik de reactie verlopen bij kamertemperatuur in het donker

na 25 uur waren de extincties: (erlenmeyers I^b, II^b, III^b)

erlenmeyer	Ib	0	0.009
		20	0.351
erlenmeyer	IIb	0	0.010
		20	0.346
erlenmeyer	IIIb	0	0.110
		20	0.111

Bij het gebruik van de drie reagentia B ontstonden in geen enkel geval neerslagen.

Toepassing van EDTA (erlemeyers IIIa, b) om neerslagen te voorkomen leidt tot een sterke verlagen van de gevoeligheid, hetgeen in

overeenstemming is met de bevindingen van Riley (1).

IV. VOORSCHRIFT VAN DE AMMONIAK BEPALING IN ZEEWATER.

Reagens A: 30 gram fenol (vers gedistilleerd)

400 mgr. natrium nitroprusside

eindvolume 1000 ml ammoniak vrije aqua-bidest.

In een bruine fles die bewaard wordt in een koelkast is deze oplossing stabiel gedurende anderhalve maand.

Reagens B: 20 gram citraat

1,1 gram natriumhydroxide

1,5 ml natriumhypochloriet (1 N hypochloriet in 0,1 N natriumhydroxide)

eindvolume 50 ml aqua-bidest (ammoniak vrij)

De sterke van de hypochloriet oplossing wordt bepaald zoals op (blz. 5) van dit verslag beschreven staat. Reagens 2 weken stabiel (koel bewaren).

Monster:

Aan een reageerbuis die gevuld is met 10 cm^3 van het te onderzoeken monster wordt een $\frac{1}{2}$ ml reagens A toegevoegd, na goed schudden wordt een $\frac{1}{2}$ ml reagens B toegevoegd. Na goed schudden sluit men de reageerbuis af met parafilm en zet men ze weg in het donker, na 25 uur komen de extinctie meten bij 630 nm.

Na gecorrigeerd te hebben voor de blanco waarde geeft 1 ugat een extinctie van 0,019.

Als er in het monster meer dan 50 ugat/l zit moet er voordat reagens A en B toegevoegd worden, verdund worden met substandaard zeewater.

Bij verwarmen (70°C) is de maximale extinctie na 25 minuten bereikt.

Apparatuur die gebruikt werd voor de resultaten uit dit verslag:

Spectrofotometer Zeiss PMQ 2

pH- meter

Philips digitale pH-meter PW 9408

Digitals radiometer, acid-base analyzer PHM 72.

Conclusies

1. Als reagens A moet gebruikt worden: 30 gram fenol (witte)
400 mgr. natriumnitroprusside
eindvolume 1 liter (NH_3 - vrij)
aquabidest
2. Het reagens is stabiel gedurende anderhalve maand als het donker en koud bewaard wordt.
3. Als reagens B moet gebruikt worden: 20 gram citraat
1,1 gram natriumhydroxide
1,5 ml natriumhypochloriet
eindvolume 50 ml NH_3 -vrije
aquabidest
 - a. Dit reagens is gedurende 2 weken stabiel.
 - b. De experimenten in dit verslag zijn alle uitgevoerd met een te hoge hypochlorietconcentratie, omdat het verloop van de hypochlorietconcentratie als variabele bij alle metingen werd uitgeschakeld. Grasshoff & Johansen (unpublished) zeggen echt dat, wanneer de hypochloriet concentratie te hoog is de organische verbindingen geoxideerd kunnen worden en dat men dan ook de N- van de organische stoffen meet. Om dit te vermijden bij hogere temperaturen en omdat de uiteindelijke hypochlorietconcentratie van niet zo groot belang is, nam ik 1,5 ml hypochloriet in reagen B.
3. De kleurontwikkeling bij kamertemperatuur in het donker duurt 25 uur.
4. De kleurontwikkeling bij 70°C duurt 25 minuten.
5. De extinctie is lineair met de concentratie tot en met $50 \mu\text{g}$ per liter.

6. De zoutfout is voor 10 μ gat 7,3%
 20 μ gat 6,4%
 30 μ gat 8,7%

7. Bij hogere temperaturen ontstaan geen neerslagen.

8. De pH was van 0‰-35‰ - 10.52-9.61.

N.B. Na het beëindigen v/dit onderzoek werd de methode met succes toegepast op de technikon CSM-6 auto-analyzer.

V. LITERATUUR OVERZICHT

1. RILEY, J.P., 1953. Anal. Chim. Acta, 9: 575.
2. DUURSMA, E.K., 1961. Neth. J. Sea Res. 1: 91.
3. NEWELL, B. & G. DAL PONT, 1964. Nature, 201 (4914): 36.
4. PROCHÁZKOVÁ, 1964. Anal. Chem., 36: 865.
5. CHAPMAN, B., G.H. COOKE & R. WHITEHEAD, Water Pollut. Control 66, 185.
6. GRASSHOFF, K., 1968. Z. Anal. Chem., 234: 13.
7. BERTHELOT, M.E.P., 1859. Répertoire de Chimie Appliquée, 284.
8. THOMAS P., 1912. Bulletin des Sociétés Chimiques Belges, 2: 796.
9. CZECH, F.W., J. FUCHS & H.F. ANTCZAK, 1961. Anal Chem. 33 (6): 7
10. PREISLEY, T.A., D.F. BISHOP & S.G. ROAN, 1972. Environmental Science and Technology 6 (7): 622.
11. LORENTZ, VON K., 1967. Zeitschrift für Klinische Chemie und Klinische Biochemie 5 (6):.
12. GUILBAULT, G.C., D.N. KRAMER & E. HACKLEY, 1966. Anal. Chem. 38: 1897.
13. KOROLEFF F., 1969. ICES CM C: 9.
14. LUBOCHINSKY & ZALTA, 1954. Bull. Soc. Chim. Biol., 36: 1363.
15. ROSKAM R. TH. & D. DE LANGE, 1964. Anal. Chim. Acta, 30: 56.
16. SOLARZANO, 1969. Limnol. Oceanog., 14: 799.

Verdere literatuur betreffende de ammoniak bepaling:

- COOPER, L.H.W., 1937. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 22: 183.
- CROWTHER, A.B. & R.S. LARGE, 1956. Analyst 81: 64
- EMMET, R.T., 1968. Nan. Ship Res. Develop Cent. Rep. 2570.
- HEAD, P.C., 1971. Deep Sea Res. 18: 531.
- JOHNSTON, R., 1966. Anal. Chem. 35:865.
- KORELEFF, F., Tellus 18: 562.
- KROGH A., 1934. Biol. Bull. Woods Hole 67: 126.
- KROLL H. & M. GORDON, 1960. Ann. N.Y. Acad. Sci. 88: 341.
- KRUSS I. & M.G. MELLON. Anal. Chem. 25: 1188.
- MACISAAC, J.J. Limnol. Oceanogr. 12: 552.
- NEWELL, B.S., 1967. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 47: 271.
- RICHARD, F.A. & R.A. KLETSCH. Univers. Wash. Dept. Oceanogr.
Techn. Rep. 97.
- RILEY, J.P. & P.J. SINHASENI, 1957. Mar. Biol. Ass. U.K. 36: 161.
- RUSSEL, J.A., 1944. Biol. Chem. 156: 457.
- SLYKE, van D.D. & A. HILLER, 1933. J. of Biol. Chem. 102: 499.
- STRICKLAND, J.D.A. & T.R. PARSONS, 1960. Bull. Fish. Res. Bd.
Can. 125.
- WATTENBERG, H. Rapp. Proc. Verb. Conc. Explo. Mer 53: 108
- WIRTH, H.E. & R.J. ROBINSON, 1933. Industrial and Engineering
Chemistry, Analytical Edition, 5: 293.

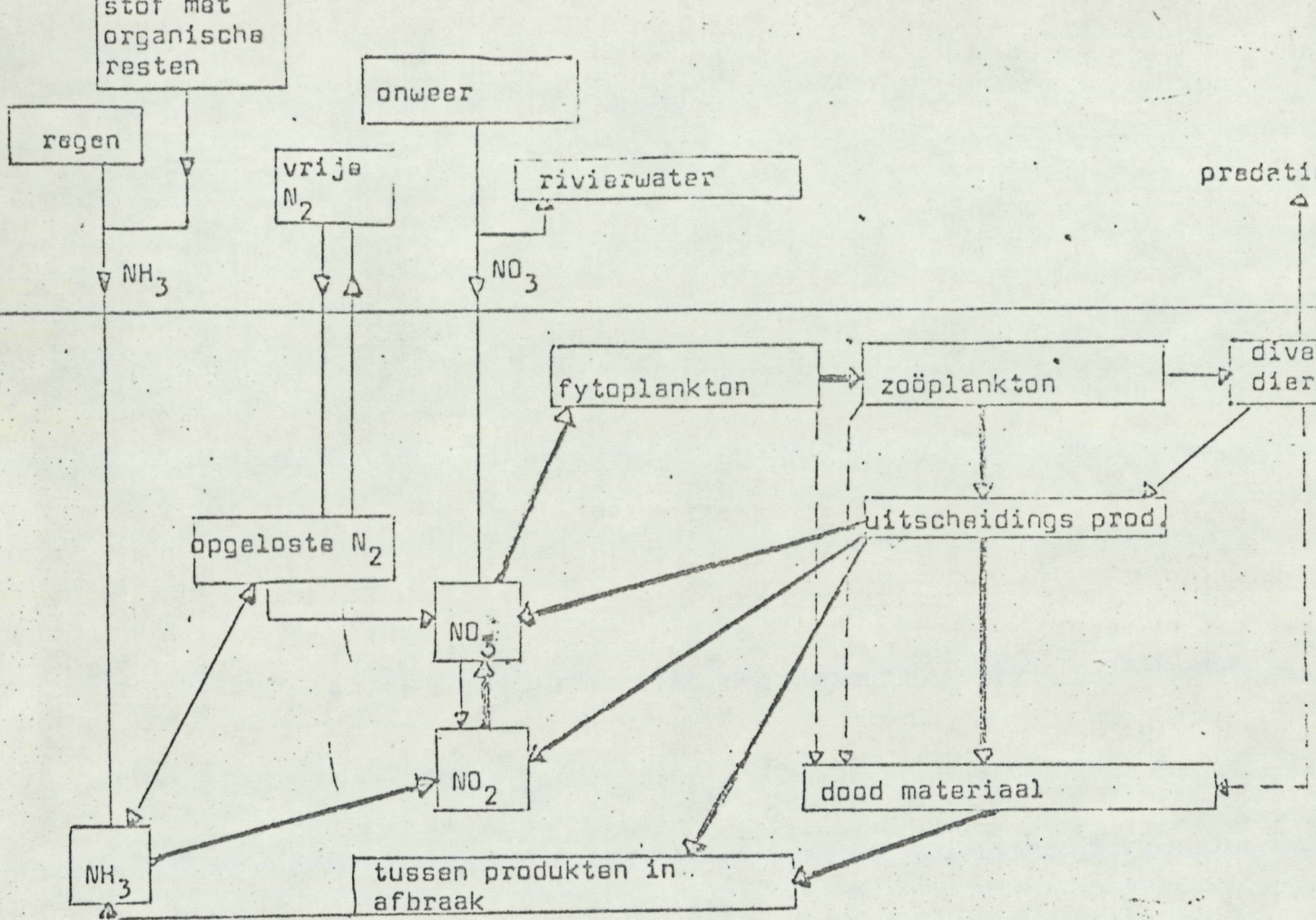
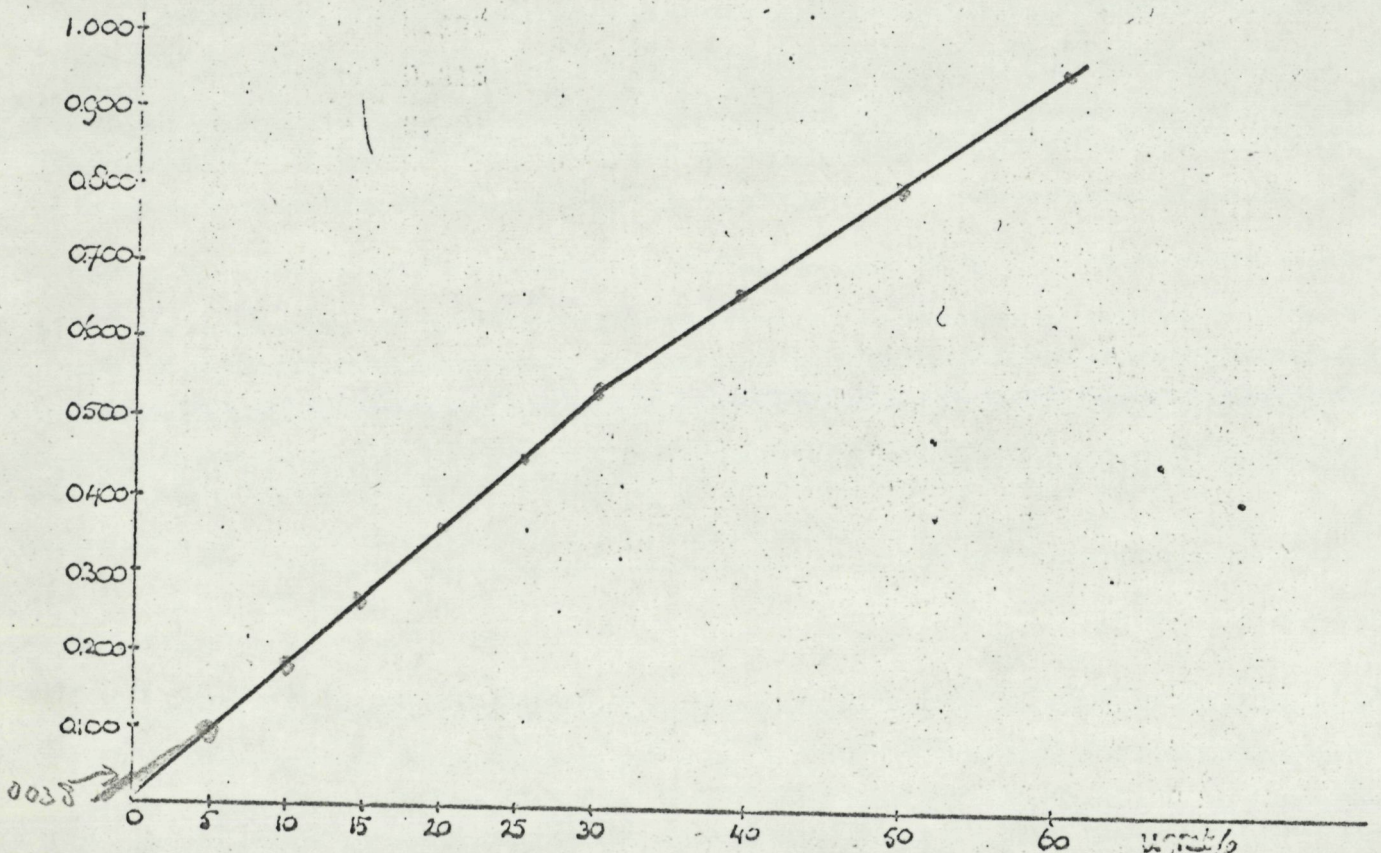


fig 1.

Met de dikke lijnen zijn de belangrijkste en de meest voorkomende processen aangegeven.

figuur 2



figur 3

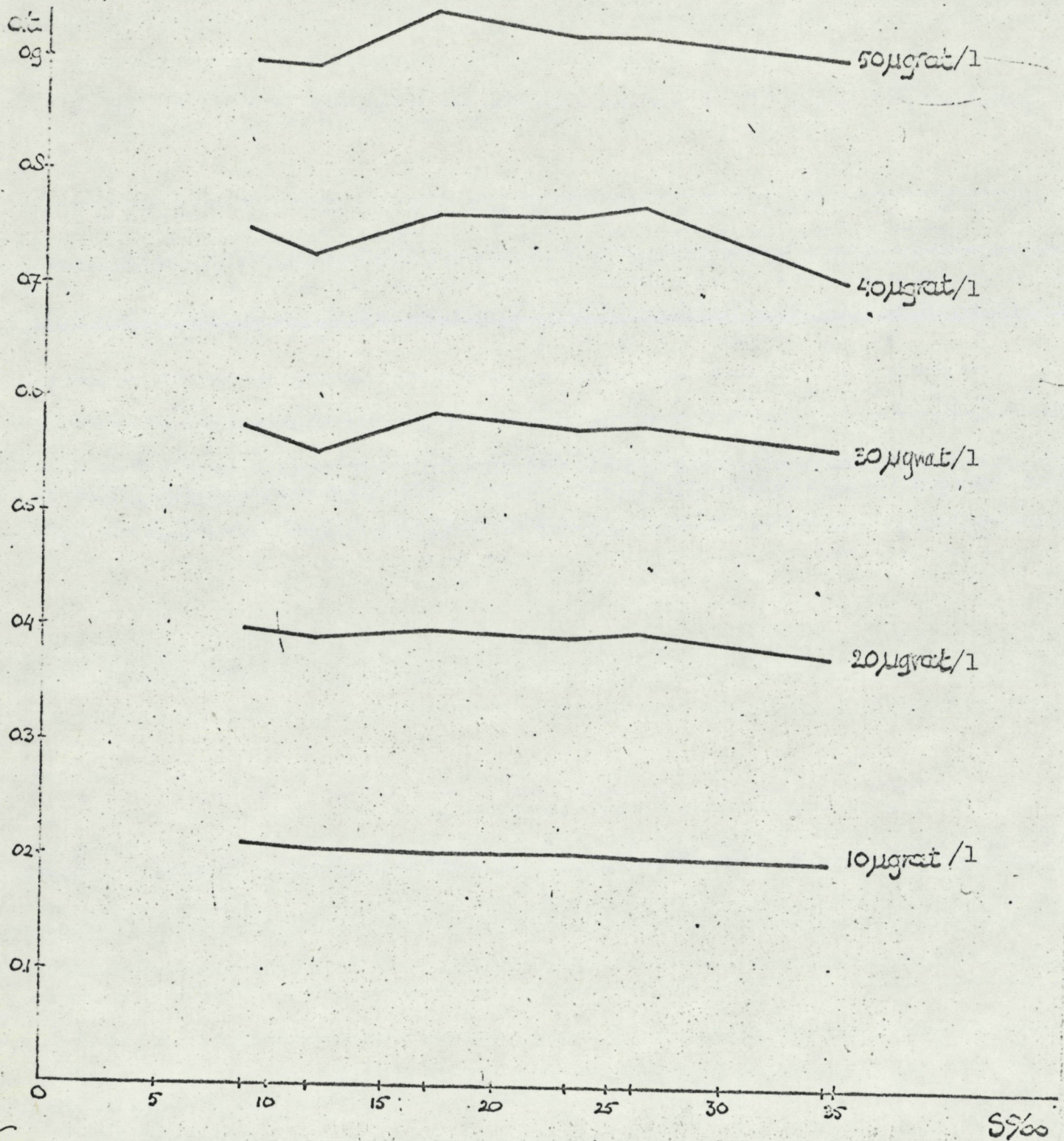


Fig. 4

SPECTRUM VAN INDOFENOL

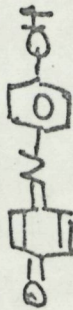


Fig. 4

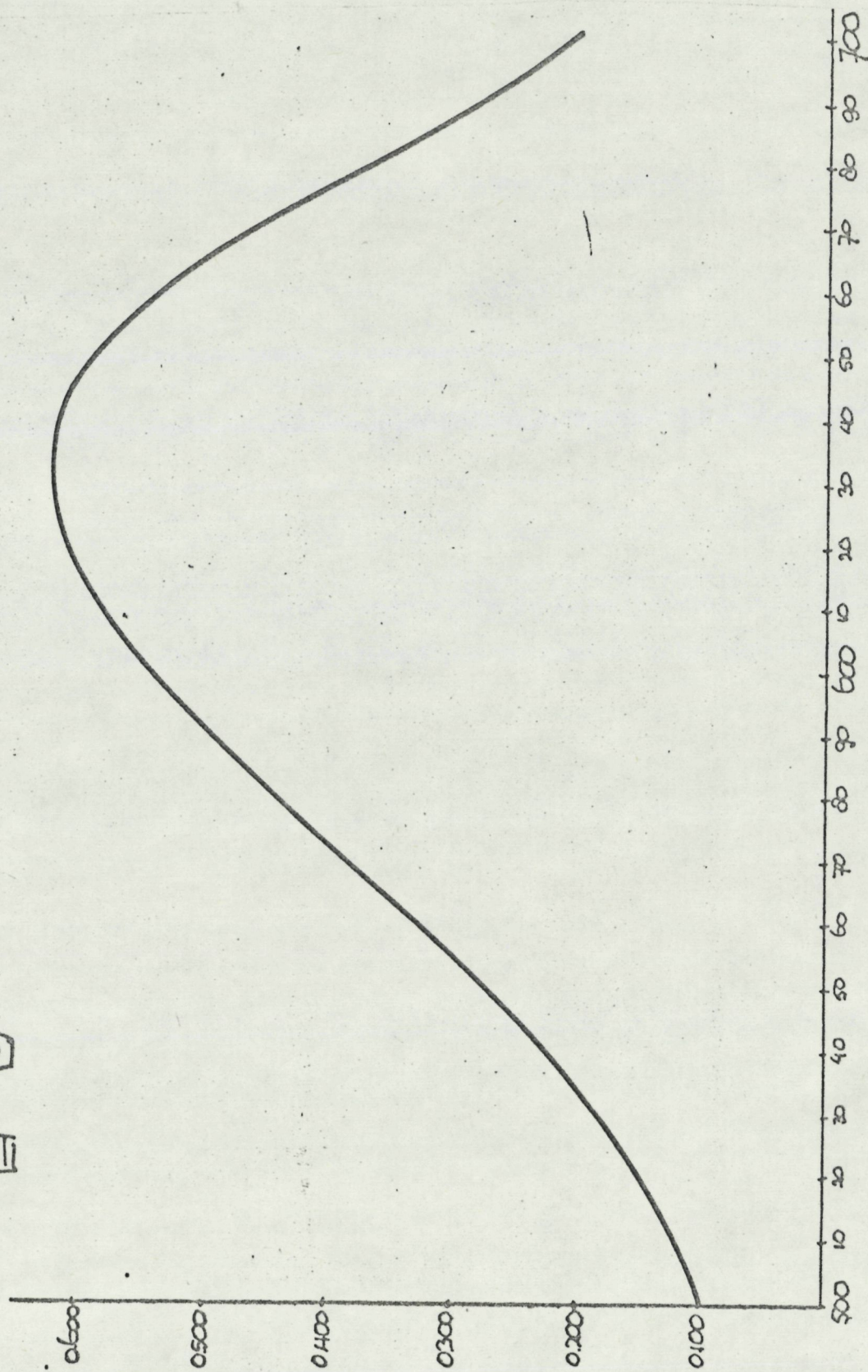
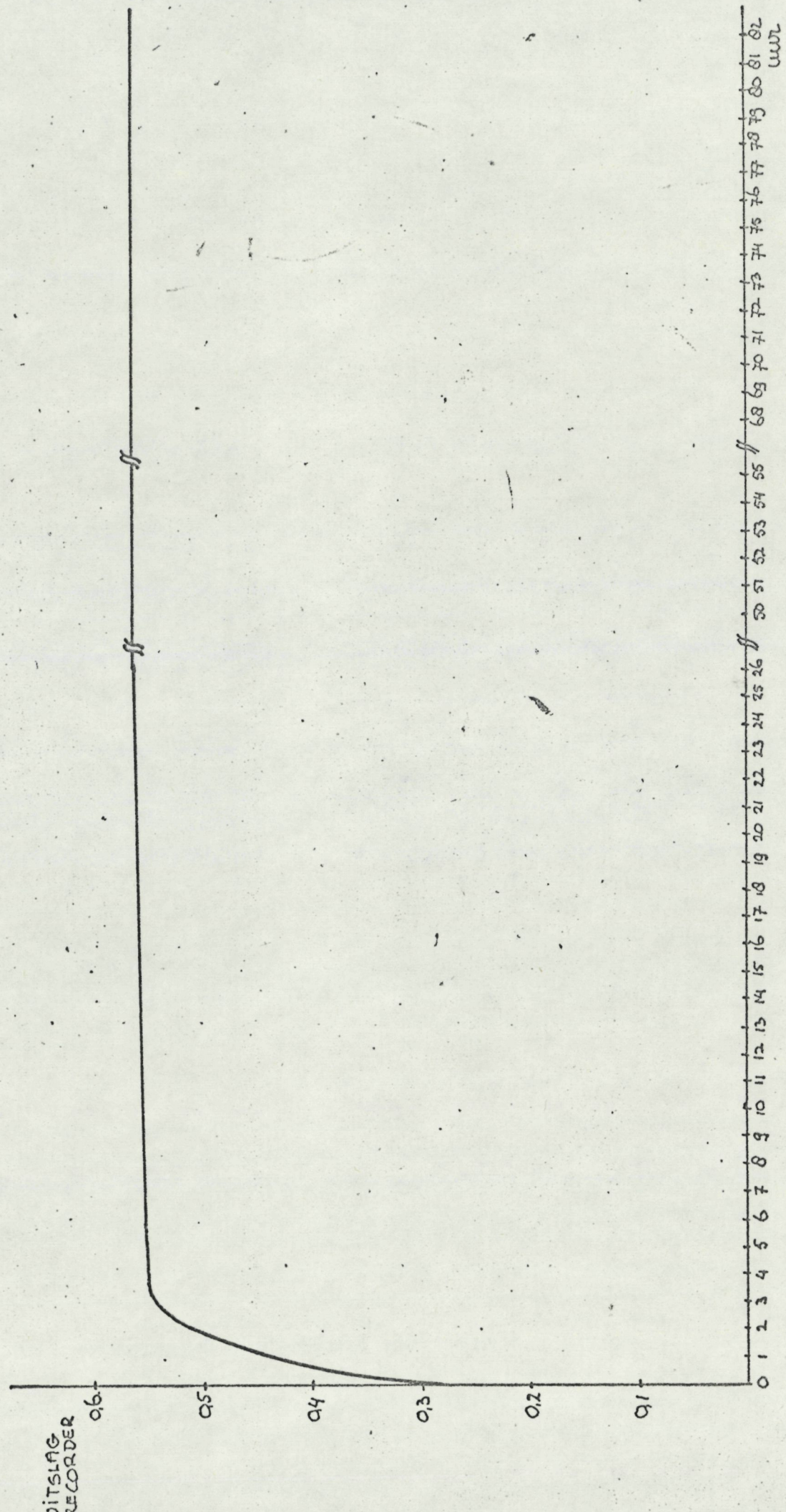
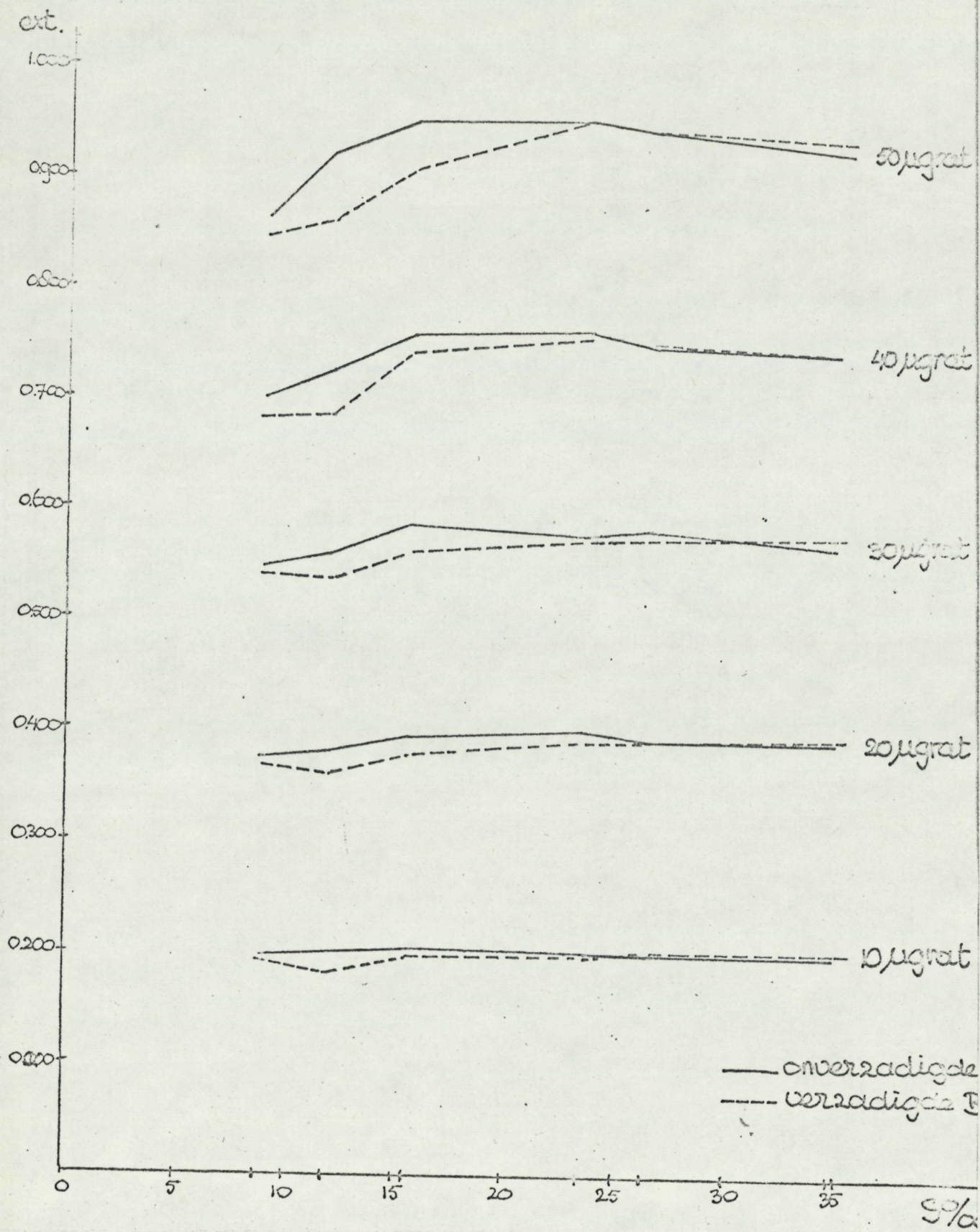


Fig 5



70 19 00 64 67 97 74 75 76 77 78 80 81 82
mm

fig 6



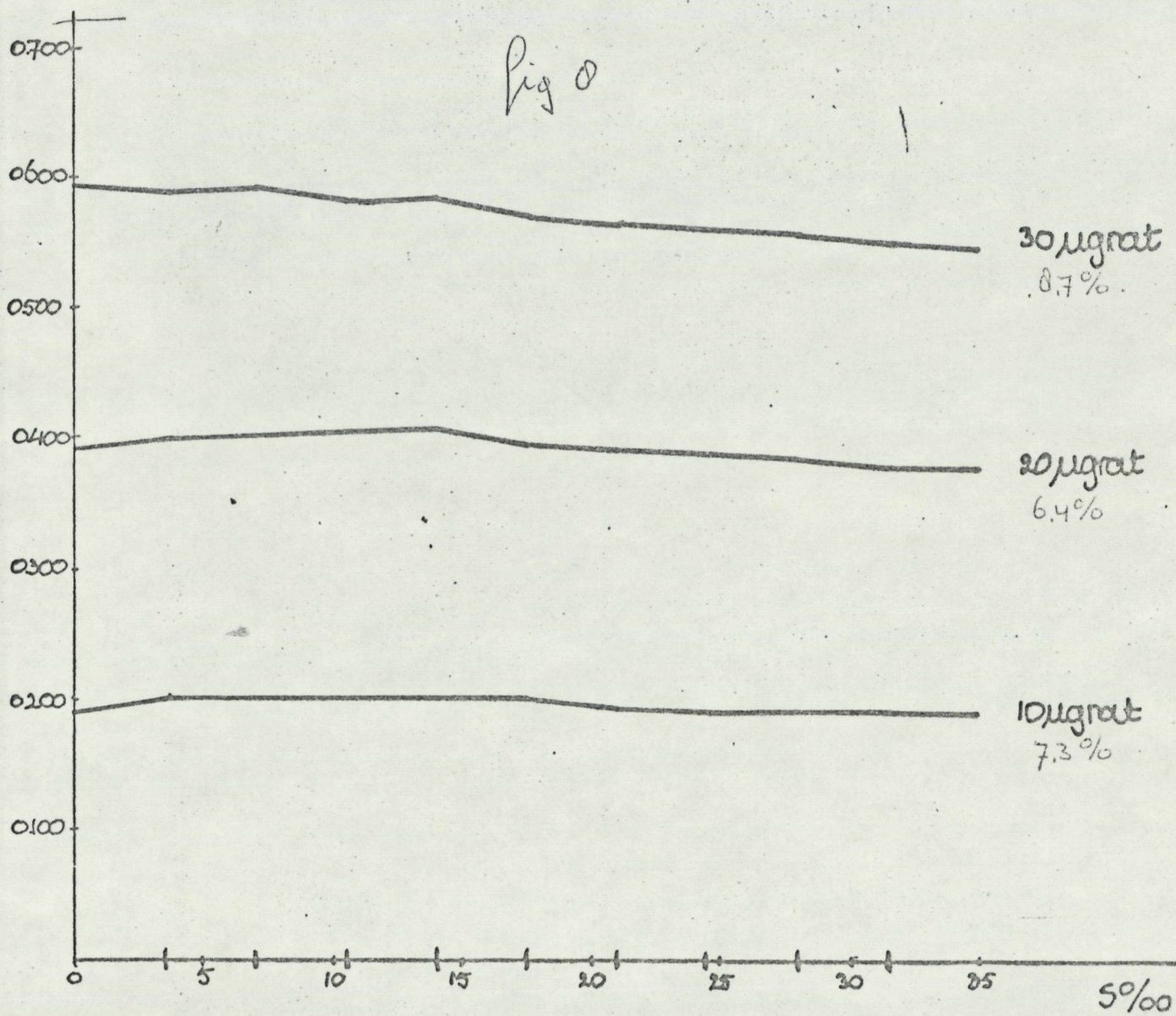
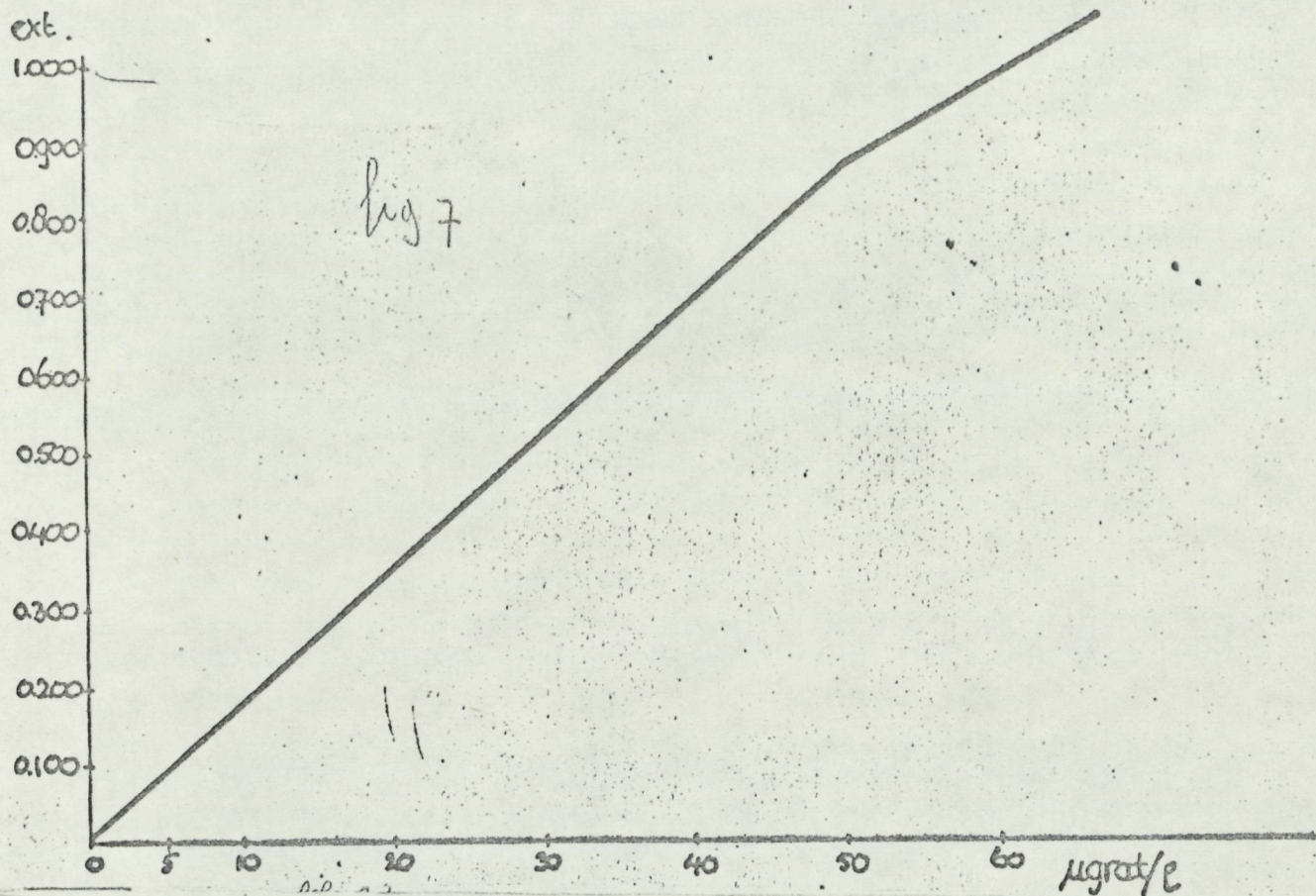


Fig 9

