

DIE VLOEI-INSPUITANALISE VAN SEKERE DETERMINANTE IN OPPERVLAK- EN  
GRONDWATER

deur

JAMES JOHN PAUER

Voorgelê ter vervulling van 'n deel van die vereiste vir die graad

MAGISTER SCIENTIAE

in die fakulteit Natuurwetenskappe

Universiteit van Pretoria

Maart 1989

THE FLOW INJECTION ANALYSIS OF CERTAIN  
DETERMINANDS IN SURFACE AND GROUND WATERS

by

JAMES JOHN PAUER

Submitted in partial fulfilment of the requirement of the degree

MAGISTER SCIENTIAE

in the faculty of Science

University of Pretoria

Maart 1989

INHOUDSOPGAWE

	Bladsy
DANKBETUIGINGS	vi
OPSOMMING	vii
SUMMARY	xi
INLEIDING	1
1. VLOEI-INSPUITANALISE	3
1.1 Definisie en beginsel van die tegniek	3
1.2 Dispersie in dun buise	6
1.3 Teoretiese modelle en wiskundige vergelykings	7
1.3.1 Die Taylor-model	8
1.3.2 Die Tenks-in-serie-model	8
1.4 Oplossing van die diffusie-konveksie-vergelyking	9
1.5 Dispersie tydens chemiese reaksies	10
1.6 Vloei-inspuitinstrumentasie	10
1.7 Vloei-inspuittegnieke	12
1.8 Vloei-inspuitanalise vs. gesegmenteerde- vloei-analise	15
1.9 Die instrumentasie wat tydens die ondersoek gebruik is	17
2. LAE KONSENTRASIE BEPALING VAN FOSFAAT IN WATER	20
2.1 Inleiding	20
2.2 Analitiese metodes	21
2.2.1 Vloei-inspuitkolorimetrie	21
2.2.2 Die molibdeenbloumetode	21
2.2.3 Keuse van reduceermiddel	22
2.3 Eksperimenteel	23
2.3.1 Optimisering van die vloeisisteen volgens sensitiwiteit	23
2.3.2 Optimisering van die reagenskonsentrasies	28
2.3.3 Optimisering van die herhaalbaarheid van die metode	29

	Bladsy	
2.4	Bepaling van die lineariteit van die kalibrasiekromme	30
2.5	Voorgestelde metode	30
2.5.1	Bereiding van die reagense	33
2.5.2	Evaluering van die metode	34
2.6	Bespreking	38
<b>3.</b>	<b>DIE BEPALING VAN AMMONIUM IN WATER</b>	<b>40</b>
3.1	Inleiding	40
3.2	Keuse van analitiese metode	41
3.3	Die indofenolmetode	41
3.3.1	Keuse van katalisator	42
3.3.2	Reaksiekondisies en reagense	42
3.4	Eksperimenteel	44
3.4.1	Optimisering van die metode	44
3.4.2	Lineariteit van die kalibrasiekromme	47
3.5	Voorgestelde metode	47
3.6	Evaluering van die voorgestelde metode	51
3.7	Bespreking	53
<b>4.</b>	<b>DIE BEPALING VAN NITRAAT EN NITRIET IN WATER</b>	<b>54</b>
4.1	Inleiding	54
4.2	Analitiese metodes	55
4.2.1	Die bepaling van nitriet	55
4.2.2	Die bepaling van nitraat	56
4.2.3	Die geoutomatiseerde kadmiumreduksie- metode	57
4.3	Eksperimentele bepaling van nitraat	58
4.3.1	Optimisering van die metode volgens sensitiwiteit	58
4.3.2	Reduksievermoë van die reduktors	61
4.3.3	Bepaling van die lineariteit van die kalibrasiekrommes	61
4.3.4	Prosedure van die voorgestelde metodes	66
4.3.5	Evaluering van die metodes	68

	Bladsy	
4.4	Omskakeling van die nitraatvloei sisteem om nitriet te bepaal	77
4.5	Bespreking van die nitraat- en nitrietmetodes	81
5.	DIE BEPALING VAN SILIKA IN WATER	83
5.1	Inleiding	83
5.2	Analitiese metodes om silika te bepaal	84
5.2.1	Die kolorimetriese silikabepaling	84
5.2.2	Die geel heteropolisuurmetode	84
5.2.3	Die gereduseerde heteropolibloumetode	85
5.2.4	Voordele van die heteropolibloumetode bo die geel heteropolisuurmetode	86
5.2.5	Die geoutomatiseerde heteropolisuurmetode	86
5.2.6	Keuse van die reduseermiddel	87
5.3	Eksperimenteel	88
5.3.1	Die sensitiwiteitsoptimiserings	88
5.3.2	Die lineariteit van die kalibrasiekromme	95
5.4	Aanbevole metode	95
5.4.1	Bereiding van reagense	98
5.4.2	Evaluering van die aanbevole metode	99
5.5	Bespreking	103
	VERWYSINGS	105

## DANKBETUIGINGS

Ek wil graag die volgende persone en instansies bedank vir hul bydrae tydens die voltooiing van hierdie studie.

Prof J F van Staden se uitstekende akademiese leiding en kritiek tydens die voltooiing van die verhandeling.

Besondere dank aan dr H R van Vliet vir sy voortdurende positiewe leiding en motivering waarsonder die eindprodukt nie moontlik sou gewees het nie.

Dr P L Kempster vir sy kennis en aanmoediging tydens hierdie projek.

Mnr I Schoonraad vir die tegniese hulp met die opstelling van die instrumentasie.

Mev A Kolbe vir die professionele en kunstige wyse waarop sy al die sketse en grafieke geteken het.

Mev B M Sutton vir die geduld waarmee sy my soms onleesbare handskrif getik het.

Die personeel van die Hidrologiese Navorsingsinstituut.

Mev A Vorster en mnr G Pauer vir die proeflesing van die dokument.

Laastens my dank aan die Departement van Waterwese vir die goedkeuring van die projek.

## OPSOMMING

Vloei-inspuitanalise (VIA) is 'n kontinue-vloei-tegniek soortgelyk aan gesegmenteerdevloei-analise (SVA) wat onlangs (1976) ontwikkel is. Hierdie ongesegmenteerde tegniek is gebaseer op herhaalbare monsterinspuiting, akkurate tydmeting en gekontroleerde dispersie. Weens die beheer wat die veranderlikes op die dispersie in die vloei-sisteem uitoefen, is VIA 'n veelsydige metode en kan 'n verskeidenheid determinante hiervolgens bepaal word. VIA is veral geskik vir die analise van farmaseutiese en watermonsters.

'n Vergelykende studie het getoon dat VIA-metodes 'n aansienlike hoër monsterfrekwensie en laer reagensverbruik as die ooreenstemmende SVA-metode het. SVA is egter 'n goed gevestigde tegniek wat die afgelope drie dekades gebruik is vir roetine wateranalise.

VIA-metodes is ontwikkel vir die bepaling van fosfaat, silika, nitraat, nitriet en ammonium in oppervlak- en grondwater. Standaard AutoAnalyzer-modules is gebruik vir die kolorimetriese bepaling van bogenoemde determinante. Die kolorimeter is toegerus met 'n 50 mm ontborrelende tipe vloeisel (b.d. = 1,5 mm). Die voordeel van so 'n vloeisel is die uitskakeling van enige onreëlmatige lugblasies wat in die vloei-sisteem mag ontstaan. Die dikker buise en groot ontborrelende gedeelte verhoog egter die oordrag tussen opeenvolgende monsters en verlaag sodoende die monsterfrekwensie. Die klepsisteem wat gebruik is, is 'n normale vloeistofchromatograafklep wat deur 'n plaaslik vervaardigde tydmeganisme geskakel word.

Die bepaling van fosfaat en silika is op die molibdeenblou-metode gebaseer met respektiewelik tin(II)chloried en askorbiensuur as reduseermiddels. Die steurende invloed wat silika en fosfaat op die alternatiewe metodes het, is verwyder. 'n Monsterfrekwensie van 90 monsters per uur is by hierdie metodes gehandhaaf.

Die Shinmetode is gebruik vir die bepaling van nitraat en nitriet in water. Weens die beperkings van die direkte metodes is nitraat indirek bepaal. Nitraat is met 'n kadmiumreduktor eers na nitriet gereduseer, gevolg deur 'n kolorimetriese nitrietbepaling. Streng gesproke word nitraat plus nitriet dus in teenwoordigheid van die reduktor bepaal. Nitriet kom egter in sulke lae konsentrasies in water voor dat hierdie waarde as nitraat benader kan word. 'n Kadmiumkolom en 'n kadmiumbuis is as reduktor evalueer. Deur die reduktor te verwyder is nitriet met dieselfde vloeisistiem bepaal. 'n Monsterfrekwensie van 100 monsters per uur is by hierdie metodes gehandhaaf.

Ammonium is deur die indofenolmetode eerder as die Nessler-metode bepaal weens die beter sensitiwiteit en betroubaarheid van die metode. Die monsterfrekwensie was 120 monsters per uur.

Al die metodes is geoptimiseer om die determinante te bepaal in die konsentrasiegebied soos dit in oppervlak- en grondwater voorkom. Die kalibrasiekrommes was of lineêr of het slegs effens daarvan afgewyk, terwyl die resultate 'n aanvaarbare akkuraatheid en herhaalbaarheid gelewer het.

Vloei-inspuitanalise is suksesvol gebruik om 'n verskeidenheid determinante in water te bepaal. Weens die hoë monsterfrekwensie en die besparing in reagensverbruik is hierdie tegniek uiters geskik vir die roetine analise van 'n groot aantal monsters.

## SUMMARY

Flow injection analysis (FIA) is a continuous flow technique, similar to segmented flow analysis (SFA). FIA is based on reproducible sample injection, accurate timing and controlled dispersion. This technique is very versatile due to the control of the variables on the dispersion of the flow system and can be applied to a number of applications. It is especially suitable for pharmaceutical and water samples.

A comparative study has shown that the sample frequency of FIA methods is significantly higher than that of the corresponding SFA methods. SFA, however, is an established method that has been successfully used in routine water laboratories for the past three decades.

FIA methods were developed for the determination of phosphate, silica, nitrate, nitrite and ammonium in surface and ground waters. Standard AutoAnalyzer modules were used for the colorimetric determination of the above mentioned constituents. The colorimeter was equipped with a debubble type flow cell. The advantage of this type of flow cell is the elimination of any air bubbles that may occur in the flow system. The debubble section, however, causes an increase in the carry over and therefore lowers the sample frequency. A liquid chromatography valve was used for the sample injection. The valve was controlled by a locally constructed timing device.

The phosphate and silica determinations were based on the molybdenum blue method using respectively tin(II) chloride and ascorbic acid as reducing agents. A sample frequency of 90 samples/h was maintained for both methods.

The Shinn method was used for the determination of nitrate and nitrite in water. Due to the limitations of the direct methods an indirect method was used for the determination. Nitrate was reduced to nitrite using a cadmium reductor and the nitrite concentration was determined. It is obvious that nitrate as well as nitrite are determined in the presence of the cadmium reductor. The concentration of nitrite in natural waters is, however, very low and this value is therefore often approximated as nitrate. This method was evaluated using a cadmium tube and cadmium column as reductor. Nitrite was determined with the same flow system without the cadmium reductor.

Ammonium was determined by the indophenol method instead of the better known Nessler method due to its greater sensitivity and reliability. The sample frequency was 120 samples/h.

The above mentioned methods were optimized to determine the constituents in the concentration range normally associated with surface and ground waters. The calibration curves were either linear or had a slight deviation from linearity. The accuracy and precision of the results was acceptable without any interferences from other constituents in the water.

Flow injection methods can successfully be used to determine a variety of constituents in water. FIA is very suitable for the analysis of large numbers of samples due to the high sample frequency and low reagent consumption.

## INLEIDING

Die vinnige toename in industriële- en landboukundige produksie, bevolkingsaanwas en verstedeliking dra by tot die steeds toenemende besoedeling van die atmosfeer, grondoppervlakte en water. Hierdie menslike impak kan die omgewing tot so 'n mate versteur dat dit onomkeerbare ekologiese gevolge kan hê. Die beskerming van die omgewing en veral die bewaring en bestuur van water is dus een van die belangrikste wetenskaplike en tegnologiese probleme van die hede (Leonov, 1979).

Bogenoemde probleem word grootliks in 'n semi-woestynland soos Suid-Afrika vererger deurdat die beperkte waterbronne die toenemende indirekte hergebruik van water noodsaak. (Departement van Waterwese, 1986).

Om die watergehalte suksesvol te bestuur, is voldoende inligting oor die kwaliteit van die water nodig. 'n Groot aantal monsters moet gevolglik geanaliseer word vir 'n verskeidenheid determinante in water. Vinnige en akkurate metodes is dus noodsaaklik om hierdie werkklas te verlig.

Die makro-anorganiese determinante in water is die afgelope aantal jare hoofsaaklik deur 'n geoutomatiseerde tegniek, bekend as gesegmenteerde vloei-analise (SVA), bepaal. AutoAnalyzer-instrumentasie wat op hierdie tegniek gebaseer is, is tans sinoniem met roetine analitiese waterlaboratoriums.

Vloei-inspuitanalise (VIA) is 'n kontinue-vloei-tegniek wat onlangs ontwikkel is (Ruzicka en Hansen, 1975; Stewart, Beecher en Hare, 1976). Sedertdien het VIA heelwat aandag geniet en 'n aantal publikasies hieroor het die afgelope dekade verskyn.

Voordele van VIA bo SVA is die betekenisvolle toename in die monsterfrekwensie en vermindering van reagensverbruik. Vloei-inspuitanalise is egter 'n nuwe metode met beperkte voorbeelde waar dit in 'n roetine analitiese waterlaboratorium gebruik is.

Die doel van hierdie studie was om VIA metodes te ontwikkel vir die kwantitatiewe bepaling van die volgende determinante in oppervlak- en grondwater:

- fosfaat,
- ammonium,
- nitraat en nitriet,
- silika.

Die metodes moes aan die volgende vereistes voldoen:

- a. Oor voldoende sensitiwiteit beskik om die determinant in die konsentrasiegebied te bepaal waarin dit normaalweg in oppervlak- en grondwater teenwoordig is.
- b. 'n Goeie herhaalbaarheid (~2%) en aanvaarbare akkuraatheid openbaar.
- c. Geen betekenisvolle steurings ondervind van ander determinante wat normaalweg in oppervlak- en grondwater voorkom nie.
- d. 'n Monsterfrekwensie hê wat normaalweg met VIA-metodes geassosieer word (>80 monsters/h).

## 1. VLOEI-INSPUITANALISE

### 1.1 Definisie en beginsel van die tegniek

Vloei-inspuitanalise is gebaseer op die inspuiting van 'n monster (in oplossing) in 'n kontinue-bewegende, nie-gesegmenteerde reagensdraerstroom. Dispersie van die monstersone vind plaas namate die monster in dun buisies na 'n deurvloedetektor ('n vloei- sel wat 'n detektor besit) beweeg. Hierdie deurvloeidetektor meet deurlopend die absorpsie (pH, elektrode-potensiaal of enige ander fisiese eienskap) van die vloeistof wat daardeur beweeg. 'n Verandering in die absorpsie word waargeneem wanneer die monster deur die vloei- sel beweeg (Ruzicka en Hansen, 1975).

Hoewel dit mag voorkom of die afwesigheid van die lugsegmentasie en metode van monsterinlating die belangrikste eienskappe van hierdie kontinue-vloeimetode is, is die tegniek egter gebaseer op 'n kombinasie van die volgende drie beginsels (Ruzicka en Hansen, 1978).

#### a. Herhaalbare monsterinspuiting

Die monster moet in die draerstroom op 'n herhaalbare wyse ingevoer word (Ruzicka en Hansen, 1978) sonder om die draerstroom te versteur. Die ingespuite monster vorm 'n goed gedefinieerde sone in die draerstroom soos in figuur 1.1 aangedui word.

Met die aanvanklike ontwikkeling van die VIA-tegniek (Ruzicka en Hansen, 1975) is die monster met 'n gewone spuit deur 'n septum in die vloei- sisteem ingespuut. Hoewel goeie resultate hierdeur verkry is, is hierdie metode grootliks van die menslike vermoë afhanklik omdat die monster elke keer teen dieselfde tempo in die draerstroom ingelaat moet word. Sedertdien het die inlaatmetodes verbeter tot die hede waar outomatiese klepsisteme gebruik word om die monster in te laat (Ruzicka en Hansen, 1981). Hierdie

klepsisteme is in staat om die monster op 'n uiters herhaalbare wyse in die draerstream in te laat met minimum steuring en pulsvorming in die draerstream.

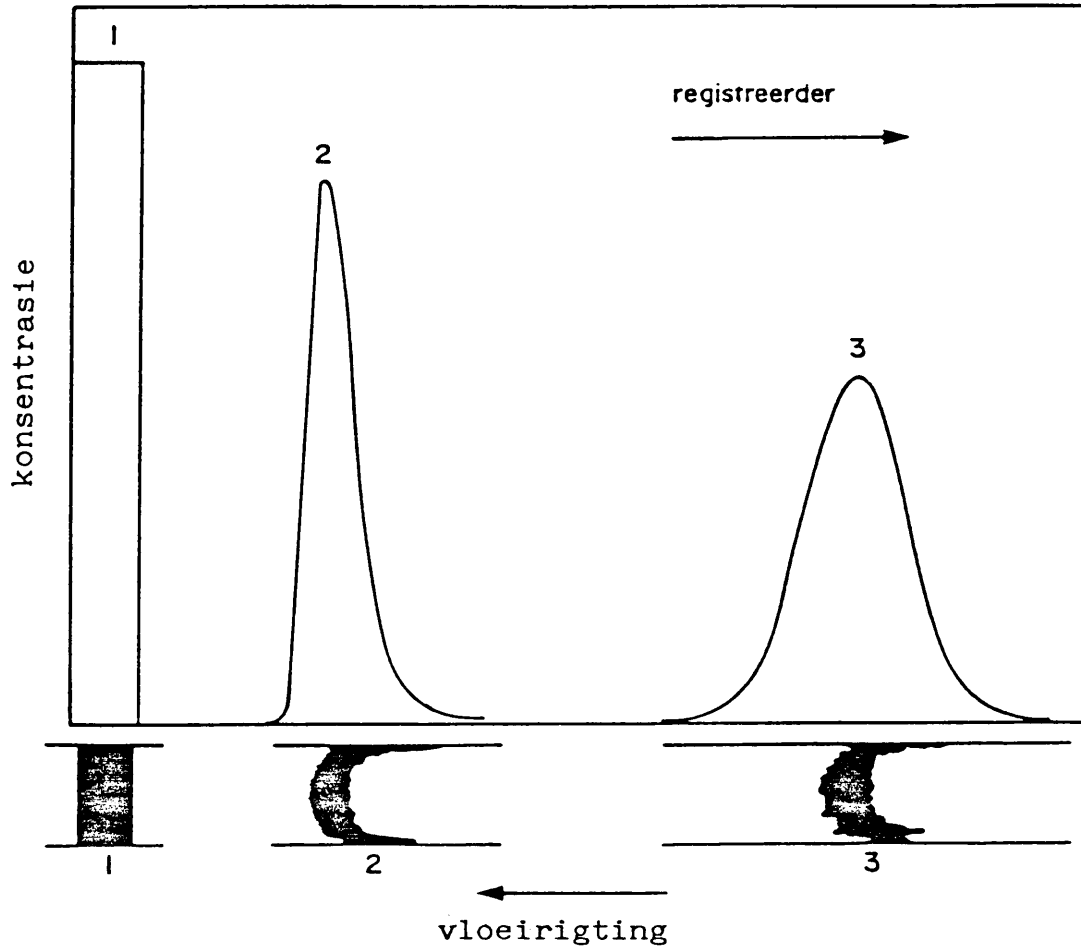
b. Noukeurige en akkurate tydmettings

Alle vorige geoutomatiseerde analitiese metodes is op 'n vloeï-ewewigsbeginsel met pieke wat 'n definitiewe plato vorm, gebaseer. Hierteenoor word hierdie toestand nie by VIA-metodes bereik nie en word die respons in terme van 'n skerp piek aangedui (Ruzicka, 1983).

Voldoende eksperimentele data is tans beskikbaar om te bewys dat hierdie oorgangsein herhaalbare en betroubare resultate lewer (Ruzicka, 1983). Die vereiste is egter dat die monsters en reagense op uiters herhaalbare intervalle ingevoer moet word, terwyl die sein elke keer deur die detektor op presies dieselfde tyd gemeet moet word. Dit impliseer dat die sein (piek) teoreties op enige punt gelees kan word en nie noodwendig by die maksimum nie.

c. Gekontroleerde dispersie

Tydens die beweging van die monster (as 'n goed gedefinieerde prop) deur die vloeisisteam op pad na die detektor vind dispersie plaas. Figuur 1.1 is 'n grafiese voorstelling van die dispersieproses. Die omvang van dispersie is afhanklik van die operasionele veranderlikes wat op die vloeisisteam toegepas word. Dit sluit monstervolume, buisdeursneë, buislengte en vloeitempo's in (Ranger, 1981). Deur verandering van bogenoemde veranderlikes kan die dispersie-eienskappe van die sisteem beheer word. Hierdeur kan VIA-metodes vir 'n verskeidenheid reaksies geoptimiseer word wat dit 'n uiters veelsydige tegniek maak.



Figuur 1.1: Skematiese voorstelling van die dispersieproses wat in die vloeisisteam plaasvind by verskillende tye; (1) by die inspuitpunt; (2) kort na die inspuiting van die monster; (3) nadat dit deur die vloeisisteam beweeg het.

## 1.2 Dispersie in dun buise

Die dispersie wat in 'n VIA-sisteem plaasvind, kan gedefinieer word as die monsterverdunning wat in die vloeistroom voorkom wanneer die monster as 'n sone daarin ingelaat word (Valcarcel en Luque de Castro, 1987).

Daar is twee meganismes wat bydra tot die dispersie van die monster naamlik:

- a. Konveksietransport wat paraboliese-vloei van die monstersone veroorsaak. Die monstersone wat in aanraking is met die buiswand, beweeg nie, terwyl die middel van die sone teen dubbeld die gemiddelde snelheid beweeg.
- b. Diffusietransport wat as gevolg van die teenwoordigheid van 'n konsentrasiegradiënt in die vloeistroom teenwoordig is en axiale en radiale diffusie veroorsaak. Die axiale diffusie dra onbeduidend by tot die totale dispersie, terwyl die radiale dispersie 'n betekenisvolle bydrae lewer (Valcarcel en Luque de Castro, 1987).

Die dispersiekoëffisiënt,  $D$ , is 'n aanduiding van die omvang van die dispersie wat die monstersone, of 'n gedeelte daarvan, ondergaan (Ruzicka, Hansen en Zagatto, 1977). Dit is die verhouding tussen die konsentrasie van 'n element van die monstersone, ( $C_0$ ), wanneer dit ingelaat word, (met ander woorde voordat enige verdunning plaasvind) en die konsentrasie daarvan, ( $C$ ), nadat dit deur die vloeisisteem beweeg het (nadat verdunning plaasgevind het).

$$D = C_0/C$$

of by die piekmaksimum

$$D_{\text{maks}} = C_0/C_{\text{maks}}$$

Dispersie kan volgens hierdie verhouding in drie klasse verdeel word (Ruzicka en Hansen, 1981) naamlik:

- Beperkte dispersie ( $D = 1-2$ ), waar daar feitlik geen dispersie plaasvind nie, is wanneer die oorspronklike samestelling van die monster gemeet word (byvoorbeeld pH, geleiding). Die VIA-sisteem het slegs die funksie om monsters op 'n herhaalbare wyse na 'n detektor te voer. Omdat geen interaksie tussen die monster en draerstroam nodig is nie, word enige dispersie wat hier plaasvind as nadelig beskou. Hoë monsterfrekwensies word met beperkte dispersie geassosieer.
- Medium dispersie ( $D = 2-10$ ) is noodsaaklik vir metodes waar die monster in wisselwerking met die draerstroam staan om 'n produk te lewer wat deur 'n detektor bepaal word. Dit sluit spektrofotometriese-, voltammetriese- en fluorimetriese-metodes in.
- Groot dispersie ( $D > 10$ ) wat gebruik word om 'n groot mate van vermenging tussen die monster en die draerstroam te veroorsaak. Dit het 'n groot konsentrasiegradiënt tot gevolg. Groot dispersie is byvoorbeeld teenwoordig by outomatiese titrasies (Ruzicka en Hansen, 1981).

### 1.3 Teoretiese modelle en wiskundige vergelykings

Verskeie modelle is voorgestel om 'n algemene vergelyking vir die piekvorming wat plaasvind, af te lei en om die eienskappe daarvan te korreleer met die eksperimentele veranderlikes van die VIA-sisteem (Valcarcel en Luque de Castro, 1987). Die Taylor-model (Taylor, 1953) en die Tenks-in-serie-model (Levenspiel, 1972) word vervolgens kortliks bespreek.

### 1.3.1 Die Taylor-model

Die Taylor-model is geldig vir vloeisisteme met stadige vloeitempo's en lang reaktors. Onder hierdie toestande word daar tot 'n groot mate vir die radiale konsentrasieverandering gekompenseer terwyl die diffusieverskynsel begunstig word (Valcarcel en Luque de Castro, 1987). Die radiale vermenging (hier hoofsaaklik as gevolg van die molekulêre diffusie) verminder die paraboliese snelheidprofiel wat as gevolg van die laminêre vloeï in die sisteem plaasvind (Ruzicka en Hansen, 1981). Taylor (1953) was die eerste persoon om hierdie verskynsel te verklaar en wiskundig op te los. As 'n massa materiaal  $M$  wat by 'n punt  $X = 0$  en tyd  $t = 0$  ingespuut word, stadig deur 'n dun buis met 'n straal  $r$  beweeg, kan die genormaliseerde Gaussiese kurwe (C-kurwe) as volg voorgestel word (Ruzicka en Hansen, 1981).

$$C = (M(\pi r^2 L) [(1/2(\pi \delta)^{0,5}) \exp(-L-X)^2 / L^2 4\delta])$$

waar

$L$  = buislengte

$\delta = D_m t / L^2$

( $D_m$  = molekulêre diffusiekoëffisiënt en  $t$  = tyd)

Hierdie vergelyking geld egter nie onder normale VIA-toestande nie (Painton en Mottola, 1983).

### 1.3.2 Die Tenks-in-serie-model

Volgens die tenks-in-serie-model beweeg die monstersone deur 'n series van goed geroerde tenks met dieselfde volumes (Levenspiel, 1972). Vir 'n enkele tenk het die genormaliseerde C-kurwe die volgende vorm:

$$C = \frac{1}{T_1} e^{-t/\bar{T}_1}$$

waar

$T_1$  = gemiddelde residensietyd van 'n vloeistofelement in 'n enkele vermengingsfase (s)

$t$  = die tyd (s)

Vir enige N-aantal vermengingsfases is

$$C = \frac{1}{T_1} \left( \frac{t}{T_1} \right)^{N-1} \frac{1}{(N-1)!} e^{-t/\bar{T}_1}$$

Vir 'n groot aantal tenks neem hierdie kurwe 'n Gaussiese vorm aan (Ruzicka en Hansen, 1981). Painton en Mottola (1983) het gevind dat hierdie model beter met die eksperimentele resultate vergelyk as Taylor se model. Daar is egter twyfel oor die geldigheid van hierdie model by kort reduktors waar N 'n klein waarde het (Valcarcel en Luque de Castro, 1987).

#### 1.4 Oplossing van die diffusie-konveksie-vergelyking

Die numeriese oplossings van die diffusie-konveksie-vergelykings in die vorm van twee tydgebaseerde vergelykings is gerapporteer (Vanderslice, Stewart, Rosenfeld en Higgs, 1981).

$$t_a = 109 a^2/D^{0,025} (L/q)^{1,025}$$

$$\Delta t_b = 35,4 a^2/D^{0,36} (L/q)^{0,64}$$

waar

$t_a$  = die tyd vanaf die monsterinspuiting totdat die monstersonde die detektor bereik

$\Delta t_b$  = die basislyn tot basislyn tyd

$a$  = radius van buis (cm)

$D$  = diffusiekoëffisiënt ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )

$L$  = buislengte (cm)

$q$  = vloeitempo ( $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ )

Hierdie vergelykings is afgelei onder streng gekontroleerde toestande met laminêre vloeikondisies van die monstersone (Vanderslice, Beecher en Rosenfeld, 1984).

'n Akkommodasiefaktor ( $f$ ) is ingestel om te kompenseer vir die verskil tussen die teoretiese en praktiese  $t_a$  en  $\Delta t_b$  waardes (Vanderslice et al. 1981).

$$t_a = (t_a)_t/f$$

$$\Delta t_b = (\Delta t_b)_t/f$$

$(t_a)_t$  en  $(\Delta t_b)_t$  is die teoretiese waardes.

Gerhardt en Adams (1982) het hierdie vergelykings gebruik om diffusie-koëffisiënte van 'n aantal verbindings te bepaal.

### 1.5 Dispersie tydens chemiese reaksies

Dit is foutief om dispersie as 'n suiwer fisiese verskynsel te beskou wanneer 'n chemiese reaksie in die vloeisisteam plaasvind. Reaksietyempo's speel hier 'n rol aangesien metings onder nie-ewewigstoestande uitgevoer word (Valcarcel en Luque de Castro, 1987).

'n Chemiese reaksie kan die dispersiekoëffisiënt op twee maniere beïnvloed. Wanneer die produk wat gevorm word, bepaal word, neem die dispersie af, terwyl die dispersie toeneem wanneer 'n reagens wat verbruik word, gemeet word (Valcarcel en Luque de Castro, 1987).

### 1.6 Vloei-inspuitinstrumentasie

Die basiese komponente van 'n vloei-inspuitanalise opstelling is:

a. Pompmechanisme

'n Ideale pompmechanisme moet die draerstream, monster en reagentse puls vry na die detektor teen 'n konstante spoed vervoer. Hierdie pompmechanisme moet eenvoudig wees en maklik in die vloei-sisteem ingevoeg kan word.

Twee meganismes wat met VIA-sisteme geassosieer word, is 'n drukverplasingpompmechanisme (Stewart 1983) en 'n peristaltiese pomp (Ruzicka en Hansen, 1975).

Peristaltiese pompe word tans die meeste gebruik, veral by die praktiese toepassing van VIA-sisteme. Hierdie pompe is eenvoudig en 'n enkele pomp wat met 'n aantal pompbuisse toegerus is, is in staat om beide die monster en reagentse voort te dryf. Deur die deursnee van die buise te varieer kan die tempo waarteen die monster en reagentse strome vervoer word, gevarieer word. Hierdie pompe is egter geneig tot pulsforming van die draerstream.

b. Monsterinlaatsisteme

Die belangrikste vereiste van 'n inlaatsisteem is om 'n goed gedefinieerde sone (prop) op 'n uiters herhaalbare wyse in 'n vloei-sisteem in te laat sonder om die draerstream te versteur (Ruzicka en Hansen, 1981). Met die aanvanklike ontwikkeling van VIA is die monster met 'n eenvoudige spuit in die vloei-sisteem ingelaat (Ruzicka en Hansen, 1975). Sedertdien het die inlaattegniek aansienlik verbeter tot vandag waar outomatiese kleppe die monster in die vloei-sisteem inlaat. 'n Verskeidenheid gaschromatografie- en vloeistof-chromatografiekleppe is al gebruik vir monsterinlating (Johnson en Petty, 1982; Motomiza, Wakimoto en Toei, 1983) terwyl ander navorsers hul eie unieke sisteme ontwikkel het (Kapauan en Magno, 1986; Jörgensen, Petersen en Hansen, 1985; Toei en Babu, 1986).

c. Komponente van die analitiese vloei-sisteem

Om egalige vloei in die vloei-sisteem te verseker, is dit belangrik dat al die komponente waardeur die vloei-stroom beweeg 'n eenvormige deursneë moet hê. Die deursneë van die buise en spirale is normaalweg 0,5 tot 0,7 mm (Karlberg, 1983). Wanneer die deursneë groter as 1 mm is, veroorsaak die toename in dispersie 'n lae monster-frekwensie. Dun buisies (<0,3 mm) daarenteen veroorsaak 'n opbouing van druk in die vloei-sisteem en maak die sisteem baie vatbaar vir verstopping (veral wanneer omgewings- en landboukundigemonsters geanaliseer word).

Spirale in die vloei-sisteem kan vervaardig word deur die buise (gewoonlik poli-etileen of Tygon) met die verlangde lengte en deursneë om 'n stafie te draai.

d. Detektors

Detektors wat vir VIA-sisteme gebruik word, moet oor klein dooie volume en 'n lae geraasvlak beskik, terwyl die respons vinnig en lineêr moet wees (Valcarcel en Luque de Castro, 1987). Verder moet die detektor die minimum dispersie veroorsaak, terwyl dit ook oor 'n lae deteksielimiët moet beskik (Ruzicka en Hansen, 1981). 'n Groot verskeidenheid detektors is al gebruik en nuwe detektors kom daagliks by. Die mees algemene detektors is spektrofotometers en ioonselektiewe-elektrodes.

## 1.7 Vloei-inspuittegnieke

Sedert die pionierswerk in die ontwikkeling van VIA (Ruzicka en Hansen, 1975; Stewart, Beecher en Hare, 1976) het die veld te oordeel aan publikasies, aansienlik toegeneem. Die klem van die ontwikkeling was egter meer op die praktyk as teorie toegespits (Ruzicka en Hansen, 1986) en 'n groot verskeidenheid VIA-variasies en -tegnieke is ontwikkel.

Algemene tegnieke sluit die volgende in:

a. Skeidingstegnieke

Verskeie analitiese metodes vereis 'n skeidingproses om die selektiwiteit te verhoog (Ruzicka en Hansen, 1981) of om sekere sturings te elimineer (van Staden, 1982). Skeidingstegnieke wat reeds by 'n VIA-sisteem gebruik is, sluit vloeistofekstraksie (Karlberg en Tehlander, 1978), dialise (Pilosof en Nieman, 1982) en gasdiffusie (van Son, Schothorst en den Boef, 1983) in.

b. Stopvloeitegniek

VIA-sisteme is geskik vir metodes met vinnige chemiese reaksies, terwyl stadiger reaksies die tegniek aansienlik bemoeilik (Stewart, 1983). Die probleem kan gedeeltelik opgelos word deur lang spirale in die vloeisisteem in te voeg. Hoewel hierdie spirale die residensityd verhoog, veroorsaak dit egter 'n toename in dispersie van die monstersone (Ruzicka en Hansen, 1978). Die verhoging in die residensityd, sonder om die dispersie te vergroot, kan deur die stopvloeitegniek bewerkstellig word (Ruzicka en Hansen, 1981). Die pompemeganisme word nadat die reagentse en monster vermeng het, gestop om die dispersie tot stilstand te bring, terwyl die reaksie steeds plaasvind. Om hierdie tegniek prakties uit te voer, is 'n goed beheerbare pompemeganisme nodig.

c. Saamvloeï-sonetegniek

Hoë reagentverbruik is 'n nadeel van die kontinue-vloeï-tegnieke aangesien die reagentse deurentyd verbruik word ongeag of die monster in die sisteem teenwoordig is of nie (Ruzicka en Hansen, 1980). Die saamvloeï-sonetegniek verminder reagentverbruik deurdat die monster op so 'n

manier in die vloei-sisteen ingelaat word dat die monstersone 'n geselekteerde seksie van die draerstroom ontmoet op 'n hoogs gekontroleerde basis. Die res van die draerstroom kan wasoplossing of gedeïoniseerde water wees (Ruzicka en Hansen, 1981). Hierdie reagenssone kan verkry word deur 'n onderbroke inpompingtegniek of deur van meer as een klep gebruik te maak (Ruzicka en Hansen, 1979; 1981).

d. Hoë sensitiwiteitsbepalings

Wanneer determinante by lae konsentrasies bepaal moet word, kan die sensitiwiteit van die metode verhoog word deur die stopvloeitegnieke, of deur 'n verhoging in die temperatuur (indien dit 'n stadige reaksie is). 'n Alternatiewe metode om die sensitiwiteit te verhoog is om die monster in 'n draerstroom eerder as die reagensstroom in te spuit. Die draerstroom meng dan met die reagensstroom by die vermengingspunt. Hierdie tegniek word vandag algemeen gebruik wanneer die determinante in lae konsentrasies voorkom (Ruzicka en Hansen, 1981).

e. Meervoudige kanaalsisteme

'n Nuttige eienskap van kontinue-vloei-sisteme is die moontlikheid om 'n monster in twee of meer gedeeltes te verdeel en aparte analises op elke gedeelte uit te voer (Stewart en Ruzicka, 1976). Een van die kritiese eienskappe by sulke meervoudige kanaalsisteme is die vermoë om die monsters op 'n herhaalbare manier te verdeel. Meervoudige kanaalsisteme is al in verskeie bepaling gebruik (Baba, Yoza en Ohashi, 1984).

Ander VIA-tegnieke sluit 'n verskeidenheid gradiënt tegnieke (Karlberg, 1983), omgekeerde VIA (r-VIA) (van Staden, 1981; Johnson en Petty, 1982) en VIA-titrasies (Schick, 1984) in.

## 1.8 Vloei-inspuitanalise vs. gesegmenteerdevloei-analise

Sedert die ontwikkeling van VIA (Ruzicka en Hansen, 1975; Stewart *et al.*, 1976) is die voorstanders van VIA in 'n groot stryd met die aanhangers van die konvensionele SVA-tegniek gewikkel. Verskeie publikasies het dan ook verskyn om die onderskeie tegnieke te propageer en om voordele bo die ander tegniek uit te wys (Riley en Rocks, 1983; Snyder, 1980).

Eienskappe van VIA wat ooglopend van SVA verskil:

- die afwesigheid van lugsegmentasie in die vloei-stroom,
- die feit dat 'n vloei-ewig nie 'n vereiste is nie, en
- die vorming van skerp pieke eerder as die pieke met 'n definitiewe plato van SVA.

Die twee metodes is egter nou verwant en die meeste SVA-metodes kan maklik vir VIA-sisteme aangepas word (Stewart, 1983).

'n Opsommende vergelyking tussen die twee metodes word in tabel 1.2 aangedui.

Tabel 1.2: Verskille tussen gesegmenteerdevloei-analise (SVA) soos deur Skeggs (1957) voorgestel is en moderne vloei-inspuitanalise (VIA).

Eienskap	SVA	VIA
Lugsegmentasie	Teenwoordig	Afwesig
Monsterinlating	Aspirering	Inspuiting
Reaksietye <sup>†</sup>	~2 min	<30 s
Monsterfrekwensie	30-50 monsters/h	80-120 monsters/h
Responstyd*	2-30 min	3-60 s
Monstervolume	m <sup>3</sup> -gebied	μ <sup>3</sup> -gebied
Data oordraging*	Piekhoogte	Piekhoogte Piekarea Piekwydte
Volledigheid van die reaksie	Vloei-ewewig	~75% van die vloei-ewewig.
Reagensverbruik	Min	Baie min
Pieke	Pieke met 'n plato	Skerp klokvormige pieke

Vanaf \*Valcarcel en Luque de Castro, 1987.

<sup>†</sup>Stewart, 1983.

#### Voordele van vloei-inspuitanalise bo gesegmenteerdevloei-analise:

1. Daar is 'n betekenisvolle toename in monsterfrekwensie by VIA-metodes en 'n afname in reagensverbruik en monstervolume (tabel 1.2).
2. Die vinnige respons van VIA maak dit 'n geskikte metode om roetine monsters te bepaal aangesien enige foute vinnig waargeneem, en herstel kan word.
3. Die probleme met lugblasies (sogenaamde "bubble trouble") is by VIA afwesig.

SVA is egter 'n gevestigde metode wat vir die afgelope aantal dekades oorheersend gebruik is vir die analise van omgewings-, landboukundige- en farmaseutiese monsters. Om hierdie rede kan SVA-metodes tans met meer vertroue as die VIA-metode in 'n laboratorium toegepas word.

#### 1.9 Die instrumentasie wat tydens die ondersoek gebruik is

Met die uitsondering van die monsterinlaatsisteem is instrumentasie wat uitsluitlik vir SVA gebruik word, ook ideaal geskik vir VIA. 'n Verskil tussen die instrumentasie van kolorimetriese VIA- en SVA-bepaling is die tipe vloeisel wat gebruik word. 'n Ontborrelende tipe vloeisel word gewoonlik by 'n SVA-sisteem gebruik, terwyl 'n tipiese VIA-vloeisel 'n kleiner dooie volume besit sonder die ontborrelende gedeelte. Tydens hierdie studie egter is 'n konvensionele SVA-vloeisel gebruik. Daar is vir die groter oordrag gekompenseer deur die tempo van die vloeistroom deur die vloeisel te verhoog.

In alle metodiekontwikkeling wat in hierdie studie gedoen is, is deurgaans Technicon AutoAnalyzer modules gebruik.

##### Monsternemer

'n Technicon AutoAnalyzer monsternemer IV is gebruik waarvan die skakelmeganisme gewysig is.

##### Peristaltiese pomp

'n Technicon AutoAnalyzer model II peristaltiese pomp met standaard Technicon pompbuise is deurgaans gebruik.

##### Kolorimeter en registreerder

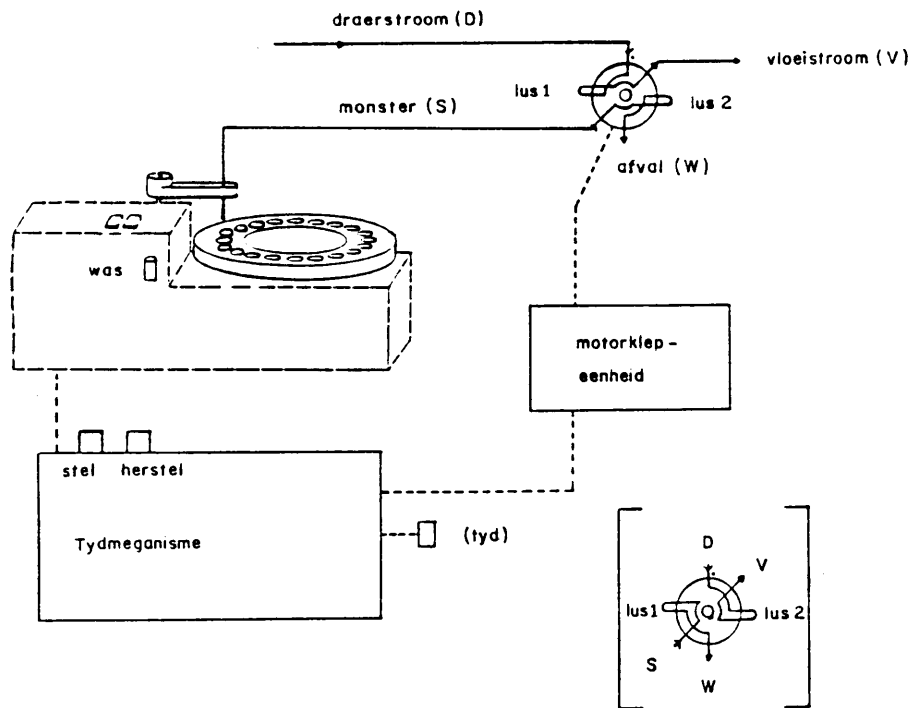
As detektor is 'n Technicon dubbelkanaalkolorimeter met 'n 50 mm ontborrelende tipe vloeisel (binnedeursneë = 1,5 mm) gebruik wat direk gekoppel is aan 'n Technicon dubbelpenregistreerder.

### Klepsisteem

'n Carle (model 2014) klep met twee varieerbare monsterlusse is gebruik. Die klep is deur 'n Carle klepmotoreenheid (model 4201) aangedryf wat deur 'n tydmeganisme beheer is.

### Tydmeganisme

'n Tydmeganisme is vervaardig wat beide die klep en monsternemer kan skakel. Met die "stel" puls word die klep gedraai terwyl die monsternemer geskakel word om monster op te neem. Met die "herstel" puls word slegs die monsternemer gestel om water op te neem. Die tydinterval van beide die "stel" en "herstel" pulse kan gevarieer word. Figuur 1.2 is 'n skematiese voorstelling van die tydmeganisme.



Figuur 1.2: Diagrammatiese voorstelling van die monster-  
 inlaatsisteem; die inlas diagram is die al-  
 ternatiewe posisie van die klep.

## 2. LAE KONSENTRASIE BEPALING VAN FOSFAAT IN WATER

### 2.1 Inleiding

Fosfor kom in natuurlike- en afvalwater uitsluitlik voor as fosfaat. Dit sluit in ortofosfaat, gekondenseerde fosfate (piro-, meta- en ander polifosfate) en organies-gebonde fosfate. Hierdie fosfate is in water teenwoordig in oplossing, as klein deeltjies of in lewende materiaal (Standard Methods, 1985).

Oppervlakwater het 'n lae fosfaatkonsentrasie (Van Vliet en Nell, 1986), terwyl die konsentrasie in grondwater selfs nog laer is (Davis en De Wiest, 1966; Bouwer, 1978). Die konsentrasie kan egter aansienlik toeneem met die teenwoordigheid van industriële- en ander afval in water (Wetzel, 1983). 'n Betekenisvolle bron van fosfaat in afvalwater is 'n wye verskeidenheid reinigingsmiddels terwyl bemestingstowwe afkomstig vanaf landboukundige afloop en riooluitvloei ook die fosfaatkonsentrasie verhoog.

Ekologies is fosfaat 'n belangrike verbinding as gevolg van die rol wat dit in 'n verskeidenheid metaboliese prosesse speel. Fosfaat is een van die primêre voedingstowwe vir die groei van alle plant- en dierlewe. In vergelyking met die ander voedingstowwe wat volop in water voorkom, het fosfaat 'n baie lae konsentrasie en is dit dikwels 'n beperkende faktor vir die groei van organismes. In so 'n geval kan 'n toename in die fosfaatkonsentrasie 'n oormatige groei van veral alge en ander waterplante tot gevolg hê. Akkurate en sensitiewe metodes vir die bepaling van fosfaat is dus 'n fundamentele vereiste in die bestuur van oppervlakwater.

## 2.2 Analitiese metodes

Fosfaat kan deur 'n verskeidenheid analitiese metodes bepaal word insluitende titrasie, gravimetrie, chromatografie, amperometrie, kolorimetrie en voltammetrie. Laasgenoemde drie metodes is reeds geoutomatiseer en vir 'n vloeï-inspuitsisteam aangepas (Fogg en Bsebsu, 1981; Harden en Nonidez, 1984; Ruzicka en Stewart, 1975). Vloeï-inspuitskolorimetrie is die mees algemene metode terwyl Fogg en Bsebsu (1981; 1982; 1984) onlangs heelwat werk op vloeï-inspuitsvoltammetrie gedoen het.

### 2.2.1 Vloeï-inspuitskolorimetrie

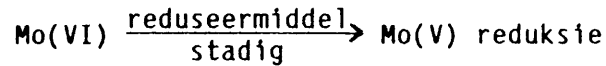
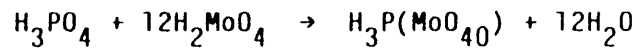
Slegs die ortofosfaatspesie kan kolorimetries bepaal word. Om die totale fosfaatkonsentrasie in water te bepaal moet alle fosfaatspesies eers na die ortofosfaatspesie omgeskakel word (Standard Methods, 1985).

Kolorimetriese metodes wat reeds vir 'n vloeï-inspuitsisteam aangepas is, is die malagietgroenmetode (Motomizu, Wakimoto en Toëi, 1983; Fernandez, Niell en Lucena, 1985) van toepassing op lae fosfaatkonsentrasies soos byvoorbeeld in reënwater, die vanadomolibdofosfaatmetode (Basson, van Staden en Cattin, 1981) van toepassing op relatief hoë fosfaatkonsentrasies en die molibdeenbloumetode (Ruzicka en Stewart, 1975) wat die grootste fosfaatkonsentrasiegebied dek en die mees algemeen in gebruik is.

### 2.2.2 Die molibdeenbloumetode

Die metode berus op die beginsel dat ortofosfaat met 'n oormaat molibdaat in 'n suurmedium reageer om molibdofosforsuur te vorm. Tydens selektiewe reduksie van hierdie suur word 'n produk met 'n intense blou kleur gevorm. Die intensiteit van die blou kleur is proporsioneel aan die fosfaatkonsentrasie en kan kolorimetries by 'n bepaalde golflengte gemeet word.

Die analitiese metode is gebaseer op die volgende reaksies:



Daar bestaan egter twyfel oor die stoïgiometrie van die reaksies en die tipe bindings waarby die molibdeen betrokke is (Kircher en Crouch, 1982). Die reaksie tussen fosfaat en molibdeen vind vinnig plaas (Javier, Crouch en Malmstadt 1969), terwyl die reduksiereaksie aansienlik stadiger verloop (Murphy en Riley, 1962) en tempobepalend is.

In die algemeen word 'n relatiewe vinnige reaksietempo (reaksietyd van minder as 30 s) vir vloeï-inspuitmetodes vereis (Stewart, 1983). Die stadige reaksietempo van die reduksiereaksie is 'n belangrike beperking van hierdie metode. Die reaksie kan tot 10 minute neem om volledig plaas te vind (Ruzicka en Hansen, 1981). Dit het onvolledige kleurontwikkeling by die detektor tot gevolg wat die sensitiwiteit van die metode aansienlik verlaag.

### 2.2.3 Keuse van reduseermiddel

Verskeie reduseermiddels is vir die reduksieproses voorgestel waarvan tin(II)chloried (Lutwak, 1953) en askorbiensuur (Murphy en Riley, 1962) die gewildste is. Askorbiensuur word in die algemeen bo tin(II)chloried as reduseermiddel verkies. Die belangrikste redes vir hierdie keuse is

- 'n meer stabiele reduksieproduk as die van tin(II) word gevorm, terwyl 'n kleiner soutfoutkorreksie nodig is (Murphy en Riley, 1962);
- Die herhaalbaarheid van die askorbiensuurreduksie is beter as die van tin(II)reduksie (Strickland en Austin, 1959).

- Tin(II) is onstabiel as gevolg van die gemak waarmee dit deur atmosferiese suurstof geoksideer word. Dit veroorsaak 'n basislynverskuiwing wat nie by die askorbiensuurreduksie voorkom nie.

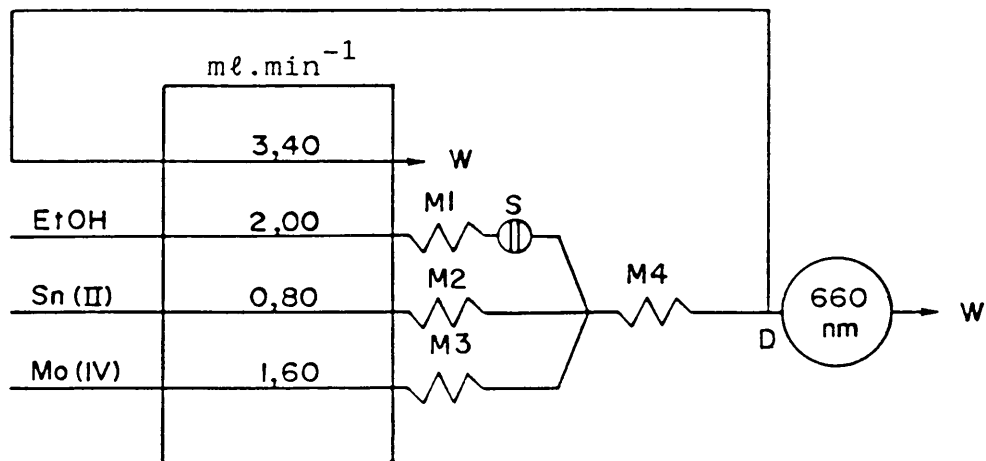
Vir lae fosfaatkonsentrasiebepalings is die askorbiensuur-reduksie egter te stadig om voldoende sensitiwiteit te lewer (Janse, van der Wiel en Kateman, 1983). Met die byvoeging van antimoon(III) as katalisator by die askorbiensuur word die reaksie versnel en die sensitiwiteit verhoog (Murphy en Riley, 1962). Hoë antimoonkonsentrasies lewer egter 'n troebel antimoonsout (Murphy en Riley, 1962) wat die geoutomatiseerde metode aansienlik kompliseer (Janse et al., 1983).

Hierteenoor kan die sensitiwiteit van die molibdeenbloumetode aansienlik verhoog word indien askorbiensuur deur tin(II) chloried vervang word. Fosfaatkonsentrasies kleiner as  $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}\text{-P}$  kan hierdeur bepaal word. Die stabiliteit van die tin(II)chloried kan verbeter word met die byvoeging van hidrasiensulfaat (Kolthoff, 1961) wat die herhaalbaarheid van die metode verbeter.

## 2.3 Eksperimenteel

### 2.3.1 Optimisering van die vloeisisteam volgens sensitiwiteit

Die vloeisisteam word diagrammaties in figuur 2.1 aangedui. Spirale  $M_1$ ,  $M_2$  en  $M_3$  is in die vloeisisteam teenwoordig om die pulsvorming in die vloeistroom te verminder. Die veranderlikes van die vloeisisteam is geoptimiseer volgens sensitiwiteit met relatiewe piekhoogte as maatstaf. Die univariante-metode is gebruik vir die optimisering. Een veranderlike word gevarieer terwyl die ander konstant gehou word en telkens word die sensitiwiteit bepaal. Met hierdie metode word aanvaar dat die interaksie tussen die veranderlikes weglaatbaar is.



Figuur 2.1: Skematiese diagram van die analitiese vloeisisteen van die molibdeenbloumetode; D = ontborrelaar; S = monsterklep; W = afval; M1 - M4 = vermengingspirale met afsonderlike lengtes van 500 mm.

a. Optimisering van die temperatuur

Die sensitiwiteit van die metode is by kamertemperatuur bepaal. Die temperatuur is stapsgewys verhoog en by elke temperatuur is die sensitiwiteit bepaal. Figuur 2.2 dui die invloed van temperatuur op die sensitiwiteit aan. Die maksimum sensitiwiteit is by 59°C verkry.

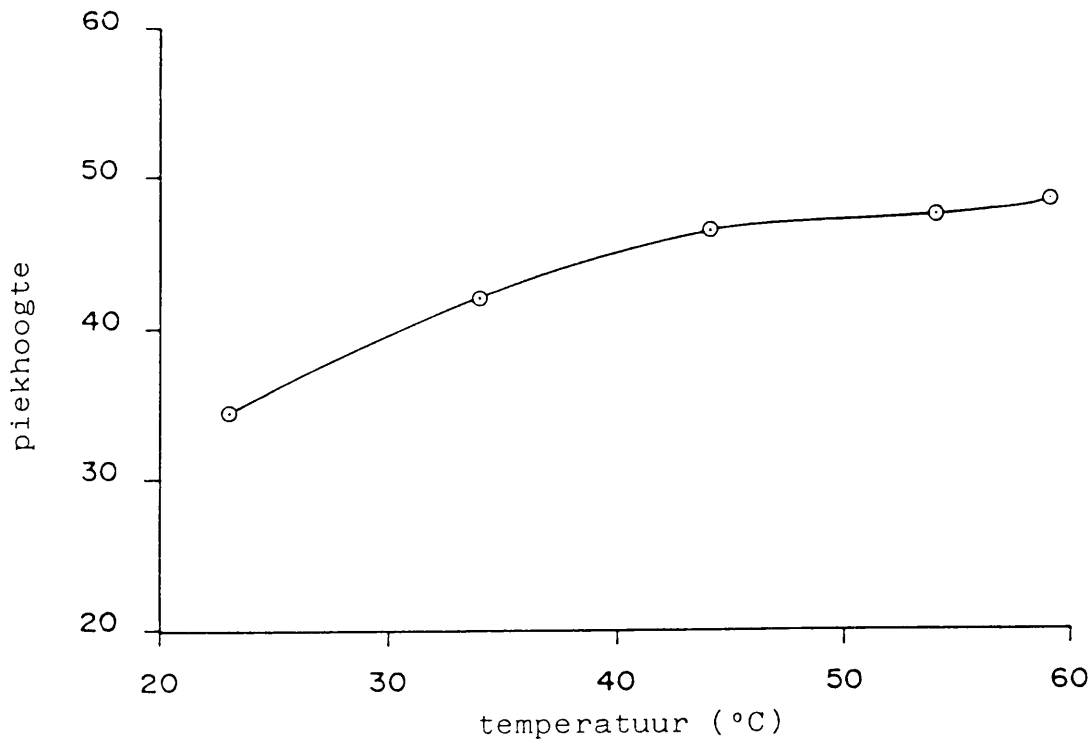
Temperature bo 45°C het egter borrelvorming in die vloeistroom tot gevolg wat steurings veroorsaak wanneer die vloeistroom deur die vloeisel beweeg. 'n Verhoging in die temperatuur verlaag ook die stabiliteit van die tin(II)-chloried en vergroot dus die verskuiwing in die basislyn. 'n Geskikte temperatuur is 39°C wat 'n bevredigende sensitiwiteit gelewer het en waarby 'n klein verskuiwing in die basislyn plaasgevind het. Hierdie temperatuur is gebruik vir verdere werk.

b. Optimisering van die lusvolume

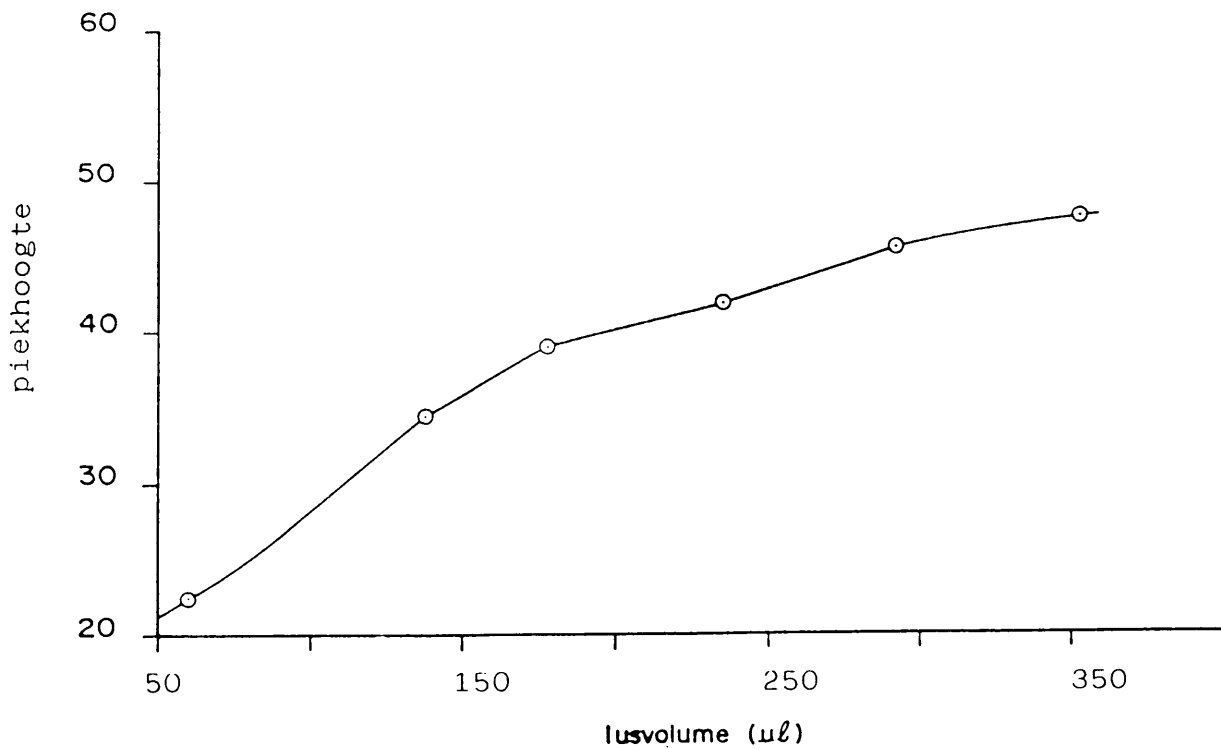
Die sensitiwiteit van die metode is as 'n funksie van die lusvolume in 'n gebied tussen 70 en 350  $\mu\text{l}$  bepaal. Die resultate word in figuur 2.3 aangetoon. Soos verwag, is daar 'n verhoging in die sensitiwiteit van die metode met toenemende lusvolume. 'n Toename in lusvolume veroorsaak egter groter oordrag tussen die opeenvolgende monsters. Die maksimum sensitiwiteit is by 'n lusvolume van 350  $\mu\text{l}$  verkry. By 'n lusvolume van 290  $\mu\text{l}$  is 'n goeie kompromie tussen sensitiwiteit en oordrag verkry.

c. Optimisering van die spiraallengte

Die invloed van die spiraallengte  $M_4$  op die sensitiwiteit van die metode is bepaal. Die resultate word in tabel 2.1 aangetoon.



Figuur 2.2: Die invloed van temperatuur op die sensitiwiteit van die molibdeenbloumetode.



Figuur 2.3: Die invloed van lusvolume op die sensitiwiteit van die molibdeenbloumetode.

Tabel 2.1: Invloed van die spiraallengte op die sensitiwiteit (i.t.v. piekhoogte) van die molibdeenbloumetode.

Spiraallengte (mm)	Relatiewe piekhoogte
0	65,0
300	73,4
500	74,0

Die maksimum sensitiwiteit is by 'n spiraallengte van 500 mm verkry (tabel 2.1). Omdat die sensitiwiteit egter by die langer spiraallengtes konstant gebly het en daar 'n toename in die oordrag van die opeenvolgende monsters was, is die spiraallengte nie verder verleng nie.

d. Optimisering van die buisdeursneë

Die invloed van die buisdeursneë van die vloeisisteam is in 'n gebied 0,38 tot 0,85 mm ondersoek. Die resultate word in tabel 2.2 aangedui.

Tabel 2.2: Invloed van die buisdeursneë op die sensitiwiteit van die molibdeenbloumetode.

Buisdeursneë (mm)	Relatiewe piekhoogte
0,38	58,3
0,58	57,2
0,85	51,4

Die maksimum sensitiwiteit is by 'n buisdeursneë van 0,38 mm verkry (tabel 2.2). Alhoewel dun buise geneig is om drukprobleme in die vloeisisteam te veroorsaak, is dit nie tydens hierdie ondersoek waargeneem nie.

### 2.3.2 Optimisering van die reagenskonsentrasies

Die optimumkonsentrasie van die reagense is deur die gewysigde simpleksmetode (Deming en Morgan, 1973) bepaal. Hoewel die veranderlikes volgens sensitiwiteit (piekhoogte) geoptimeer is, is die basislynverskuiwing ook in ag geneem. 'n Respons met 'n hoë sensitiwiteit, maar 'n groot verskuiwing in die basislyn is as ongunstig beskou. Tabel 2.3 toon die resultate wat deur die optimisering verkry is:

Tabel 2.3: Optimisering van die reagenskonsentrasies deur middel van die gewysigde simpleksmetode; ammoniumheptamolibdaat = Mo; tin(II)chloried = tin(II); hidrasiensulfaat = hidrasien.

Mo (g.ℓ <sup>-1</sup> )	tin(II) (g.ℓ <sup>-1</sup> )	hidrasien (g.ℓ <sup>-1</sup> )	Relatiewe piekhoogte	Koördinate van die simpleks					
14,0	0,20	2,0	57,3	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>
14,0	0,60	4,0	56,4	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>		
6,0	0,60	4,0	50,2	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>				
6,0	0,20	2,0	48,4	S <sub>1</sub>					
16,7	0,73	4,7	40,2	R	S <sub>2</sub>				
8,6	0,33	2,6	51,5		S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>			
19,6	0,11	1,5	45,4	R					
18,4	0,15	1,7	61,8		S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	
22,3	0,30	2,6	-	R					
12,0	0,32	2,6	60,4		S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>		
14,6	0,32	2,6	59,7			S <sub>5</sub> /R			
16,0	0,33	2,6	59,6	R					
15,5	0,30	2,5	61,0						S <sub>6</sub>

S<sub>x</sub> - simpleks se koördinate.  
 R - refleksie van die simpleks.

Die konsentrasie van die reagense is as volg vasgestel:

ammoniumheptamolibaat	14,6 g.l <sup>-1</sup>
hidrasiensulfaat	2,6 g.l <sup>-1</sup>
tin(II)chloried	0,32 g.l <sup>-1</sup>

Met bogenoemde konsentrasie is 'n goeie sensitiwiteit verkry, terwyl die basislyn redelik stabiel was.

### 2.3.3 Optimisering van die herhaalbaarheid van die metode

Die onstabiele tin(II)chloried beïnvloed die herhaalbaarheid van die metode. Die herhaalbaarheid en basislynverskuiwing is as 'n funksie van die tin(II)chloriedkonsentrasie bepaal. Die bepaling is by die optimum temperatuur (39°C) sowel as by kamertemperatuur (22°) uitgevoer.

'n Tin(II)chloriedkonsentrasie van meer as 0,10 g.l<sup>-1</sup> het 'n swak herhaalbaarheid (>2%) en 'n merkbaar verskuiwing in die basislyn tot gevolg. Tabel 2.4 toon die invloed van die tin(II)chloriedkonsentrasies minder as 0,10 g.l<sup>-1</sup> op die herhaalbaarheid en basislynverskuiwing aan.

Tabel 2.4: Invloed van tin(II)chloriedkonsentrasie op die herhaalbaarheid van die metode by kamertemperatuur (22°C) en die optimum temperatuur (39°C)

Aantal monsters	tin(II)-chloried (g.l <sup>-1</sup> )	Temperatuur (°C)	Standaardafwyking (%)	Basislynverskuiwing (%)
20	0,10	22	1,07	0,6
20	0,10	39	1,27	1,0
20	0,05	22	0,51	0,3
20	0,05	39	0,68	0,7
20	0,02	22	0,96	0,5
20	0,02	39	0,94	1,0

Die beste herhaalbaarheid is by 'n tin(II)chloriedkonsentrasie van  $0,05 \text{ g.l}^{-1}$  vir beide temperature verkry (tabel 2.4).

#### 2.4 Bepaling van die lineariteit van die kalibrasiekromme

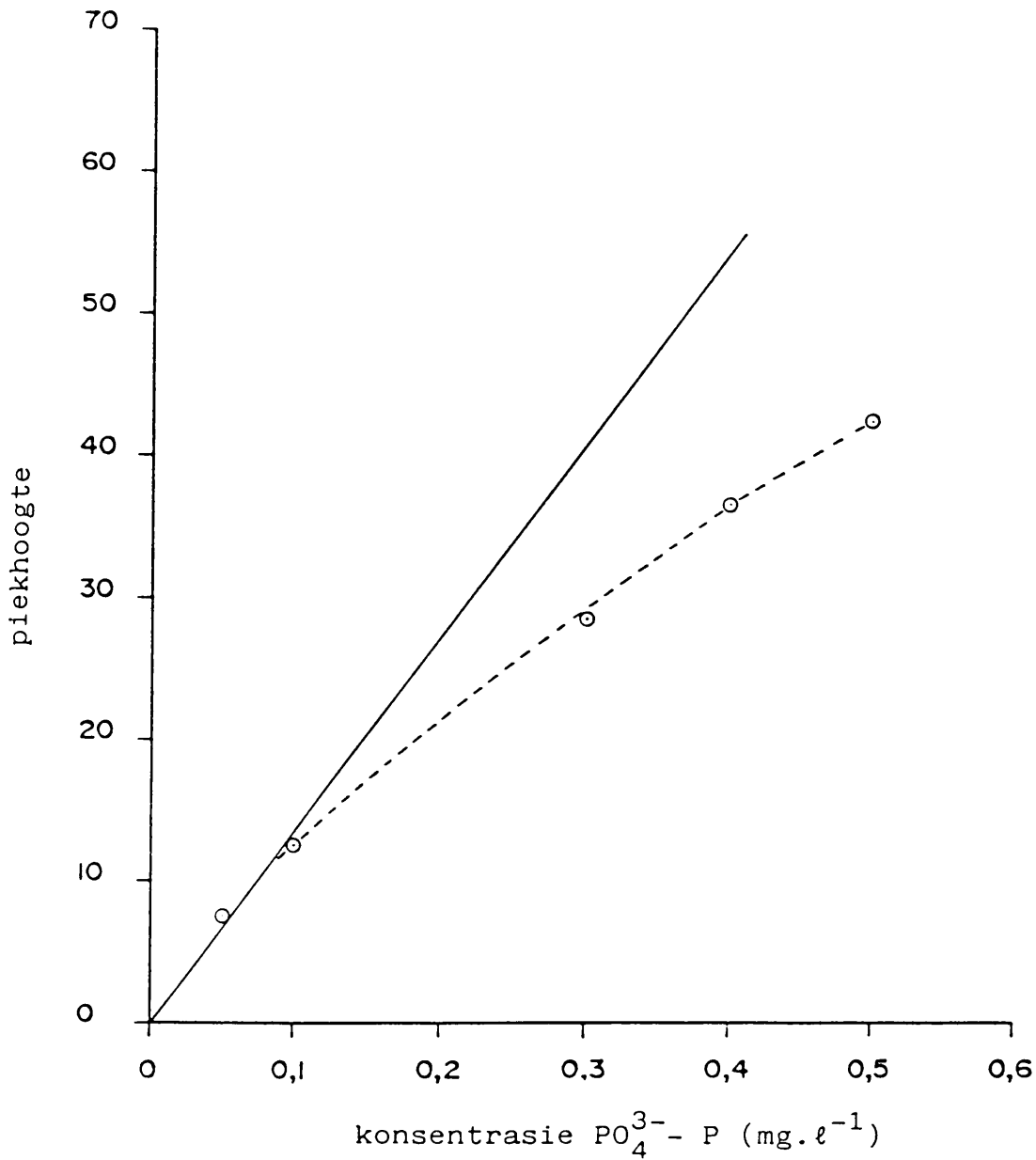
Deur gebruik te maak van reaksie- en vloeisisteenkondisies soos vooraf bepaal, is 'n noemenswaardige afname in lineariteit van die kalibrasiekromme waargeneem by die hoë fosfaatkonsentrasies (figuur 2.4). Die belangrikste rede hiervoor was waarskynlik dat die lae tin(II)chloriedkonsentrasie onvoldoende was om die molibdeenfosforsuur wat by die hoë fosfaatkonsentrasies ( $>0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ ) vorm, volledig te reduseer. Aangesien die lusvolume en tin(II)chloriedkonsentrasie 'n betekenisvolle rol in die omvang van die reduksiereaksie speel, is beide die veranderlikes herevalueer.

Figuur 2.5(a) tot 2.5(d) toon die resultate wat verkry is vir tin(II)chloriedkonsentrasies van respektiewelik  $0,05$  en  $0,09 \text{ g.l}^{-1}$  by verskillende lusvolumes. 'n Lineêre kalibrasiekromme is by 'n tin(II)konsentrasie  $0,09 \text{ g.l}^{-1}$  en lusvolume van  $180 \mu\text{l}$  verkry. Die sensitiwiteit was met hierdie waardes ongeveer 40% laer as wat met die oorspronklike optimisering verkry was.

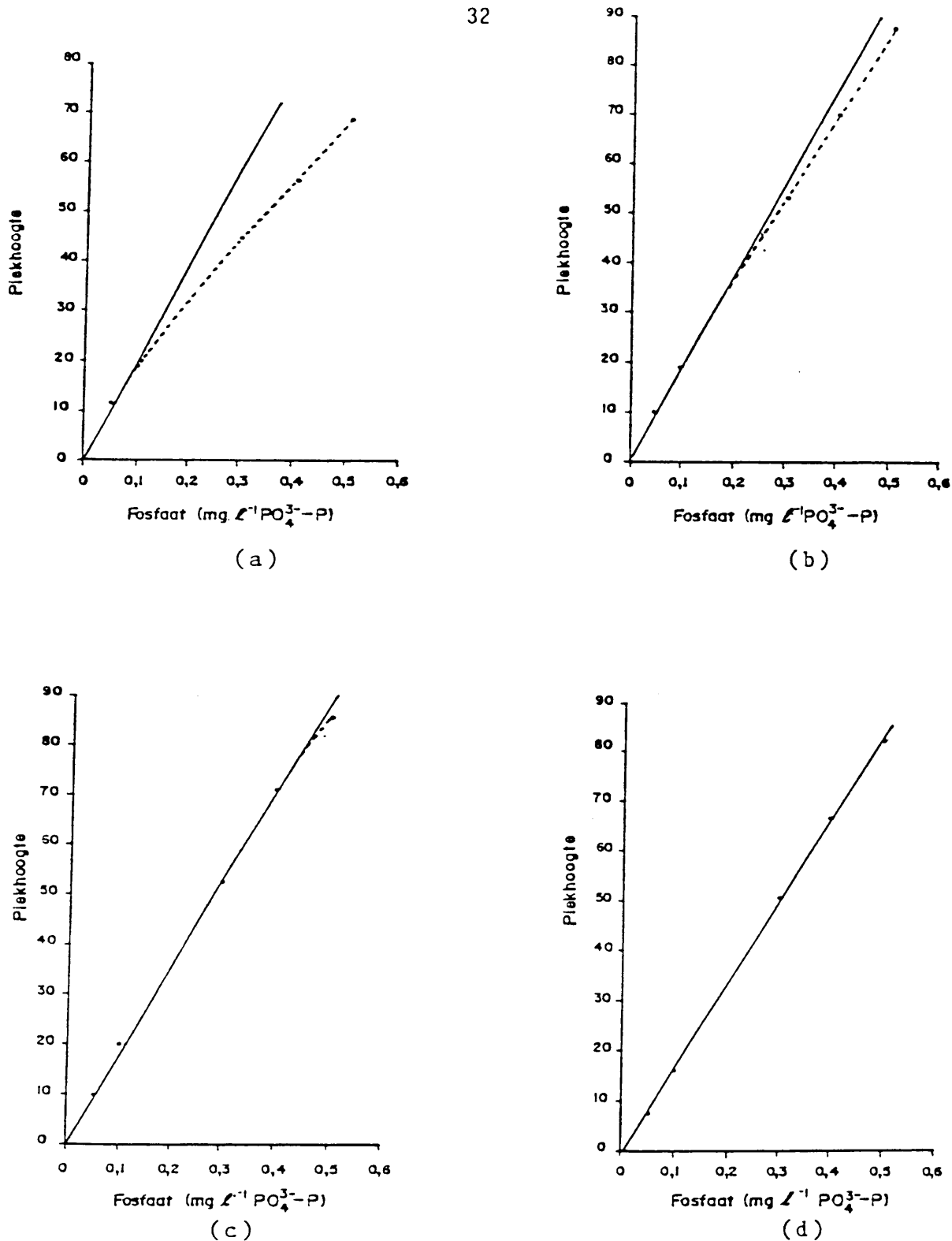
#### 2.5 Voorgestelde metode

Die veranderlikes van die vloeisisteen en reagenskonsentrasies is as volg vasgestel:

Lusvolume	$180 \mu\text{l}$
Spiraallengte	
$(M_1 = M_2 = M_3 = M_4)$	$500 \text{ mm}$
Buisdeursneë	$0,38 \text{ mm}$
Temperatuur	kamertemperatuur ( $22^\circ\text{C}$ )
Ammoniumheptamolibdaatkonsentrasie	$14,6 \text{ g.l}^{-1}$
Hidrasiesulfaatkonsentrasie	$2,6 \text{ g.l}^{-1}$
Tin(II)chloriedkonsentrasie	$0,09 \text{ g.l}^{-1}$



Figuur 2.4: Die afwyking in lineariteit van die kalibrasiekromme van fosfaat.



Figuur 2.5: Die invloed van lusvolume en tin(II)chloriedkonsentrasie op die lineariteit van die kalibrasiekromme;  
 (a) tin(II) = 0.05  $\text{g } \ell^{-1}$  en lusvolume = 290  $\mu\ell$ ;  
 (b) tin(II) = 0.09  $\text{g } \ell^{-1}$  en lusvolume = 290  $\mu\ell$ ;  
 (c) tin(II) = 0.09  $\text{g } \ell^{-1}$  en lusvolume = 230  $\mu\ell$ ;  
 (d) tin(II) = 0.09  $\text{g } \ell^{-1}$  en lusvolume = 180  $\mu\ell$ .

Alhoewel hoë temperature 'n toename in die sensitiviteit meebring, is die metode by kamertemperatuur (22°C) geëvalueer weens die beter herhaalbaarheid, kleiner basislynverskuiwing (tabel 2.4) en die eenvoud van die instrumentasie.

### 2.5.1 Bereiding van die reagentse

Daar is deurgaans analitiese reagentse (AR-reagentse) en gedeïoniseerde water gebruik.

#### Reduseermiddel

Los 0,09 g tin(II)chloried ( $\text{SnCl}_2$ ) en 2,60 g hidrasiensulfaat ( $\text{N}_2\text{H}_6\text{SO}_4$ ) op in 1 l van 'n  $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$  swaelsuur-oplossing ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Voeg die oplossing in 'n donker bottel en bedek met laboratoriumfilm.

#### Molibdeenoplossing

Los 14,6 g ammoniumheptamolibdaat ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) op in 1 l van 'n  $0,63 \text{ mol.l}^{-1}$  swaelsuuropplossing en voeg 2 ml natriumlaurielsulfaat (NLS)-oplossing (15 g NLS in 85 ml water) daarby.

#### Etanoloplossing

Verdun 50 ml etanol na 1 l met water.

#### Fosfaatstandaardoplossings

Weeg 0,4390 g kaliumdiwaterstoffosfaat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) wat vir 1 uur by 105°C gedroog is, akkuraat af, en los dit op in water. Verdun die oplossing na 1 l met water. Die oplossing bevat  $100 \text{ mg.l}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}\text{-P}$ . Tabel 2.5 toon die standaardoplossings wat vanaf die stamoplossing berei is:

Tabel 2.5: Fosfaatstandaardoplossings wat vanaf die fosfaatstamoplossing berei is.

Fosfaat (mg.l <sup>-1</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P)	Volume stamoplossing (ml)	Totale volume (ml)
0,50	5,0	1 000
0,40	4,0	1 000
0,30	3,0	1 000
0,10	1,0	1 000
0,05	0,5	1 000

Die standaardoplossings is met kwik(II)chloried (HgCl<sub>2</sub>) gepreserveer (elke standaardoplossing bevat 20 mg.l<sup>-1</sup> HgCl<sub>2</sub>).

## 2.5.2 Evaluering van die metode

### a. Steurings

Die vernaamste ione wat by die bepaling van fosfaat in water steur, is silika, yster(III), koper(II) en arsenaat. Met die uitsondering van silika kom die ione in sulke lae konsentrasies in oppervlak- en grondwater voor dat dit geen steurende effek het nie.

Die konsentrasie van silika in oppervlakwater wissel tussen 1 en 15 mg.l<sup>-1</sup> Si (van Vliet en Nell, 1986). In afvalwater en grondwater kan die konsentrasie egter hoër wees. Die invloed van silika op die voorgestelde metode is ondersoek deur die oënskynlike fosfaatkonsentrasies by verskillende silikakonsentrasies (0, 10, 20, 30 mg.l<sup>-1</sup> Si) te bepaal. Silikakonsentrasies van minder as 30 mg.l<sup>-1</sup> Si steur nie by die voorgestelde metode nie.

Daar is gevind dat die kwik(II) waarmee die monsters en standaardoplossings gepreserveer word die sensitiwiteit van die metode met ongeveer 5% verlaag. Hierdie verlaging in die sensitiwiteit van die metode beïnvloed egter nie die lineariteit van die kalibrasiekromme nie. Dit is noodsaaklik dat die monsters en standaardoplossings met dieselfde konsentrasie kwik(II)chloried gepreserveer word.

#### b. Herhaalbaarheid

Die herhaalbaarheid van die metode is in 'n konsentrasiegebied van 0,05 tot 0,5  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  ondersoek (tabel 2.6).

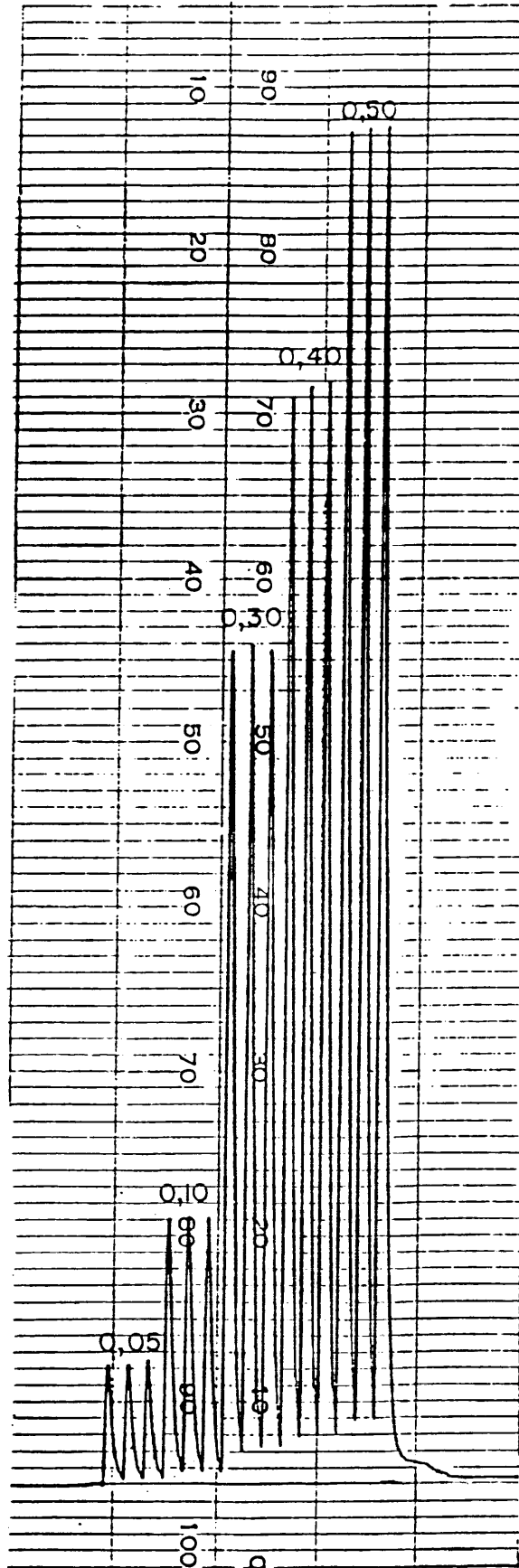
Tabel 2.6: Die herhaalbaarheid van die metode by 'n aantal fosfaatkonsentrasies.

$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )	Aantal herhalings	Standaard afwyking (%)
0,50	16	0,50
0,25	16	0,67
0,10	16	0,88
0,05	15	1,29

'n Strookkaartregistreerder wat drie herhalings van elke fosfaatstandaardoplossing illustreer, word in figuur 2.6 aangetoon.

#### c. Detekselimiet

Die detekselimiet van die metode is bepaal as drie keer die standaard afwyking van 'n lae fosfaatstandaardoplossing ( $0,10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}\text{-P}$ ). Hiervolgens is die detekselimiet van die metode  $0,003 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}\text{-P}$ .



Figuur 2.6: Registreerderstrookkaart wat drie herhalings van fosfaatstandaardoplossings in 'n gebied tussen 0.05 en 0.50  $\text{mg} \cdot \ell^{-1} \text{PO}_4^{3-} - \text{P}$  aandui

#### d. Akkuraatheid

Die akkuraatheid van die metode is bepaal deur die steursplitstegniek. Die fosfaatkonsentrasie van 'n onbekende monster is bepaal waarna 'n bekende hoeveelheid fosfaat (ongeveer die helfte van bogenoemde konsentrasie) bygevoeg is en die monster hergeanaliseer is. Die herwinning is hiervolgens bereken. Hierdie metode is op 'n aantal watermonsters uitgevoer en die herwinnings word in tabel 2.7 aangetoon:

Tabel 2.7: Die herwinning van fosfaat wat by 'n aantal oppervlak- en grondwatermonsters verkry is.

Monster	Konsentraat fosfaat (mg.l <sup>-1</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P)		Herwinning (%)
	verwag	verkry	
1	0,29	0,28	97
2	0,09	0,09	100
3	0,43	0,44	102
4	0,40	0,39	98

'n Aanvaarbare akkuraatheid is 'n herwinning van tussen 95% en 105% (die t-toets by 'n 0,05 waarskynlikheidsvlak) (Wilson, 1979). Die herwinning by al bogenoemde monsters lê tussen hierdie gebied

Die akkuraatheid van die metode is vervolgens geëvalueer deur dit met 'n gesegmenteerde vloei-analitiese metode te vergelyk. Tabel 2.8 toon die resultate wat deur die twee geoutomatiseerde metodes verkry is.

Tabel 2.8: Die resultate van 'n aantal watermonsters wat deur die voorgestelde metode (VIA-metode) en 'n gesegmenteerde metode verkry is.

VIA-metode (mg.l <sup>-1</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P)	Gesegmenteerde metode (mg.l <sup>-1</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P)
0,02	0,02
0,05	0,08
0,10	0,09
0,26	0,26
0,12	0,12
0,17	0,17
0,03	0,04
0,16	0,15
0,09	0,10
0,24	0,21

e. Monsteroordrag

Die oordrag tussen opeenvolgende monsters met verskillende fosfaatkonsentrasies is ondersoek. Die oordrag tussen die hoogste fosfaatstandaard (0,5 mg.l<sup>-1</sup> PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P) en 'n standaard van 10% van bogenoemde standaard (0,05 mg.l<sup>-1</sup> PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P) is ondersoek. Onder die eksperimentele kondisies is 'n oordrag van minder as 0,5% verkry.

2.6 Bespreking

Deur optimisering van die veranderlikes is 'n geskikte sensitiwiteit verkry om fosfaat in die konsentrasiegebied 0,003 mg.l<sup>-1</sup> tot 0,5 mg.l<sup>-1</sup> PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P te bepaal. Die kalibrasiekromme is lineêr in hierdie gebied terwyl goeie herhaalbaarheid en akkuraatheid verkry is.

Die grootste nadeel van die tin(II)chloriedreduksie is die relatief lae stabiliteit van tin(II)chloried wat 'n swak herhaalbaarheid en 'n verskuiwing in die basislyn veroorsaak. Deur die byvoeging van hidrasiensulfaat is die tin(II)chloried aansienlik gestabiliseer. Wanneer die reduseermiddel egter in 'n donker bottel, bedek met laboratoriumfilm, gehou word, is die probleem feitlik geëlimineer. 'n Goete herhaalbaarheid is verkry terwyl die verskuiwing van die basislyn nie betekenisvol was nie.

### 3. DIE BEPALING VAN AMMONIUM IN WATER

#### 3.1 Inleiding

Die belangrikste stikstofverbindings wat in oppervlak- en grondwater voorkom is, in afnemende oksidasietoestand, nitraat ( $\text{NO}_3^-$ ), nitriet ( $\text{NO}_2^-$ ), ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) en organies gebonde stikstof (Standard Methods, 1985).

Al hierdie stikstofvorme sowel as atmosferiese stikstofgas ( $\text{N}_2$ ) is biochemies omskakelbare verbindings in die stikstofkringloop (Standard Methods, 1985).

Bronne van stikstof in water sluit die volgende in:

- a. presipitasie wat direk in die water val
- b. stikstoffiksasie in beide die water en sedimente
- c. invoere van grond- en oppervlakwater dreinerings wat die grootste bron van stikstof is (Wetzel, 1983).

Ammonium is die mees gereduseerde anorganiese stikstofverbinding wat in water teenwoordig is. Gevolglik word dit by voorkeur bo nitraat en nitriet in outotrofiiese prosesse verbruik. Netso is dit die eerste anorganiese katalitiese produk van organiese materiaal (Ivancic en Degobbis, 1984).

In oppervlakwater is ammonium en ammoniumverbindings in lae konsentrasies (ongeveer  $0,1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \text{ NH}_4^+-\text{N}$ ) teenwoordig. Hoër konsentrasies dui gewoonlik op besoedeling in die water (Zadorojay, Sasiton en Finger, 1973). Die teenwoordigheid van ammonium in grondwater is hoofsaaklik afkomstig van die biosfeer (Bouwer, 1978) en kom of in baie lae konsentrasies in grondwater voor of is heeltemal afwesig (Davis en De Wiest, 1966; Hern, 1970).

Eutrofikasie en waterbesoedeling in damme is 'n hedendaagse probleem wat daaglik toeneem. As gevolg van die rol van ammonium in eutrofikasie, is die voordurende ontwikkeling van analitiese metodes vir die bepaling van ammonium in water noodsaaklik.

### 3.2 Keuse van analitiese metode

'n Verskeidenheid geoutomatiseerde metodes om ammonium in water te bepaal, is reeds ontwikkel (Bergman, Reis, Jacintho en Zagatto, 1980; Selmer-Olsen, 1971). Die Nessler- (Stewart en Ruzika, 1976) en indofenolmetodes (van Staden, 1978) is die bekendste kolorimetriese metodes en beide is reeds vir 'n vloei-inspuitsisteen aangepas. Die indofenolmetode word soms bo die Nesslermetode verkies. Die vernaamste redes hiervoor is:

- a. Die Nesslermetode lewer onbetroubare resultate (Riley, 1953).
- b. Die indofenolmetode beskik oor beter sensitiwiteit waardeur ammonium dus in laer konsentrasies bepaal kan word (Harwood en Huyser, 1970).
- c. Die golflengte waarby ammonium deur die Nesslermetode bepaal word, is 'n gebied waar 'n aantal organiese verbindings in water, ook die lig absorbeer. 'n Verwysingskanaal is dus noodsaaklik wat die analise aansienlik kompliseer en kostes verhoog.

### 3.3 Die indofenolmetode

Bertholet (1859) was die eerste persoon wat opgemerk het dat 'n blou produk vorm wanneer fenol en hipochloriet in 'n alkaliese medium met ammonium reageer.

Sedertdien is die metode gewysig om ammonium in 'n verskeidenheid bronne te bepaal (Bolleter, Bushman en Tidwell, 1969). Die vorming van 'n blou indofenol vanaf die reagense verloop via 'n aantal stappe. Figuur 3.1 toon 'n moontlike meganisme waarvolgens die reaksie plaasvind (Bolleter, Bushman en Tidwell, 1961).

Die kleurverandering geassosieer met die verandering in pH, is omkeerbaar (Bolleter et al. 1961). Die indofenolreaksie is baie spesifiek vir ammonium en in die teenwoordigheid van 'n geskikte katalisator kan 'n goeie sensitiwiteit verkry word (Patton en Crouch, 1977).

### 3.3.1 Keuse van katalisator

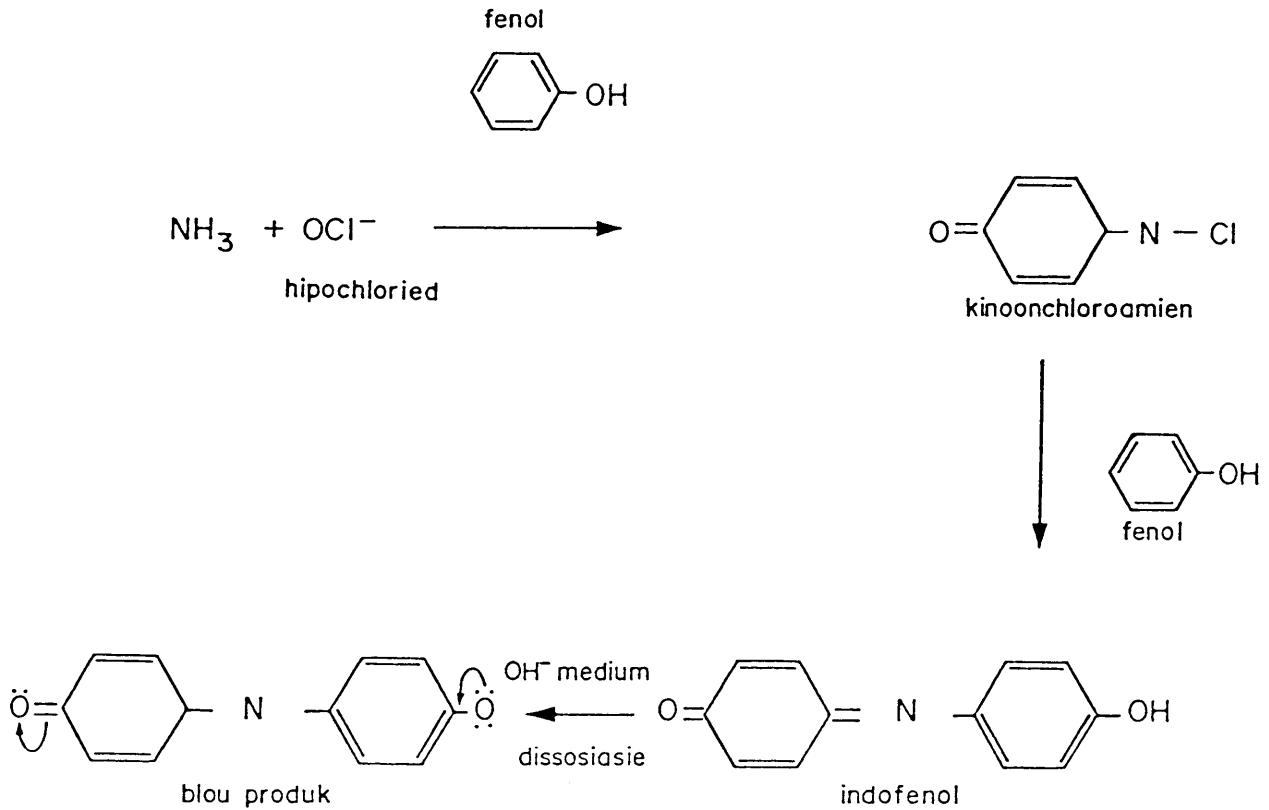
Asetoon (Tetlow and Wilson, 1964), mangaanioon (Russel, 1944) en natriumnitroprussied (Mann, 1963) is reeds gebruik om die reaksie te kataliseer.

Mann (1963) het gevind dat natriumnitroprussied in alle opsigte mangaan as katalisator oortref. 'n Ondersoek deur Harwood en Huyser (1970) het getoon dat nitroprussied 'n beter katalisator as asetoon is.

### 3.3.2 Reaksiestreeks en reagense

Die vorming en intensiteit van die blou kleur is afhanklik van 'n verskeidenheid veranderlikes soos tydsduur, temperatuur, pH-en redokspotensiaal van die oplossing (Noble, 1955).

Die indofenolmetode wat aanvanklik as 'n handmetode ontwikkel is, kan suksesvol geoutomatiseer word, weens die goeie kontrole wat op die reaksiestreeks uitgeoefen kan word (Stewart, Ruzicka, Bergamin F° en Zagatto, 1976).



Figuur 3.1: Moontlike meganisme waarvolgens die indofenol-reaksie plaasvind.

'n Teenstrydigheid van die metode is die volgorde waarby die reagense by die monster gevoeg word. Die handmetode volg normaalweg die reaksiemeganisme soos in figuur 3.1 aangedui word. By die geoutomatiseerde metode word die fenol egter voor die hipochloriet bygevoeg (Stewart *et al.*, 1976). Die reagense van die indofenolreaksie is onstabiel (Boletter *et al.*, 1961) en voorsorg moet getref word om goeie resultate te verseker.

Die metode wat in hierdie hoofstuk beskryf word, is 'n wysiging van 'n metode wat deur van Staden (1978) voorgestel is. Hierdie metode is egter aangepas om ammonium in lae konsentrasie in water te bepaal.

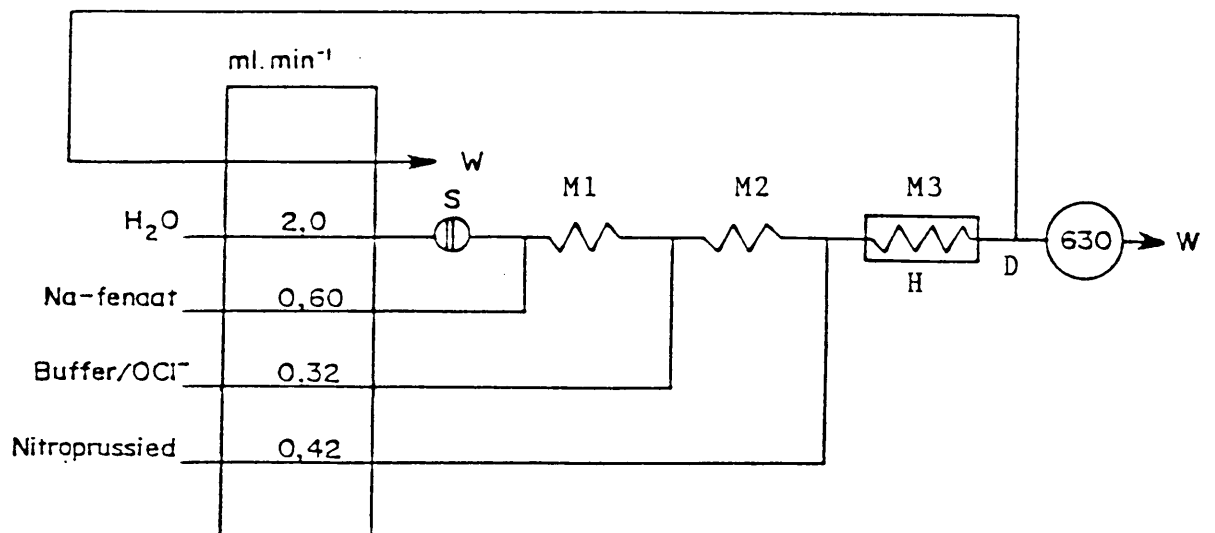
### 3.4 Eksperimenteel

#### 3.4.1 Optimisering van die metode

Die konsentrasies van die reagense soos uit die literatuur verkry is (van Staden, 1978), word in tabel 3.1 aangedui. Figuur 3.2 is 'n diagrammatiese voorstelling van die analitiese vloeisisteen wat tydens hierdie metode gebruik is.

Tabel 3.1: Aanvanklike konsentrasie van die reagense wat gebruik is vir die indofenolreaksie.

Reagense	Konsentrasie
Natriumfenaat	
(i) fenol	160 g.l <sup>-1</sup>
(ii) natriumhidroksied	120 g.l <sup>-1</sup>
Buffer/hipochloriet	
(i) trinatriumsitraat	110 g.l <sup>-1</sup>
(ii) natriumhipochloriet-oplossing	0,2 mol.l <sup>-1</sup>
Natriumnitroprusied	5 g.l <sup>-1</sup>



Figuur 3.2: Skematiese voorstelling van die analitiese vloei-sisteem van die indofenolmetode; S = monsterklep; H = waterbad; D = ontborrelaar; W = afval; M1 en M2 = vermengingspirale met afsonderlike lengtes van 500 mm; M3 = vermengingspiraal met 'n lengte van 1900 mm.

a. Reagense

Verduunnings van die aanvanklike fenaatkonsentrasie is berei en die sensitiwiteit van die metode is by elke verdunning bepaal. Daar is gevind dat die sensitiwiteit van die metode met ongeveer 20% toeneem as die aanvanklike fenaatkonsentrasie met die helfte verdun word. Geen verdere optimisering van die reagenskonsentrasie is uitgevoer nie weens die kompleksiteit van die reaksie en die interaksie wat die reagense op mekaar uitoefen (Harwood en Huyser, 1970).

b. Lusvolume

Die invloed van lusvolume op die sensitiwiteit van die metode is ondersoek deur lusvolumes in 'n gebied tussen 60  $\mu\text{l}$  tot 350  $\mu\text{l}$  te varieer en telkens die sensitiwiteit te bepaal. Tabel 3.2 toon die invloed van lusvolume op die sensitiwiteit van die metode aan.

Tabel 3.2: Die invloed van lusvolume op die sensitiwiteit van die indofenolmetode.

Lusvolume ( $\mu\text{l}$ )	Relatiewe piekhoogte
60	40
170	46
290	46
350	43

Die maksimum sensitiwiteit is verkry by 'n lusvolume van 170 tot 290  $\mu\text{l}$  (tabel 3.2). Aangesien die monsteroordrag toeneem met 'n toename in die lusvolume, is 170  $\mu\text{l}$  gebruik vir verdere werk.

c. Temperatuur

Die sensitiwiteit van die metode is as 'n funksie van die temperatuur ondersoek (slegs spiraal  $M_3$  is in 'n waterbad geplaas en verhit). 'n Verhoging in die temperatuur het 'n drastiese toename in sensitiwiteit tot gevolg (figuur 3.3).

3.4.2 Lineariteit van die kalibrasiekromme

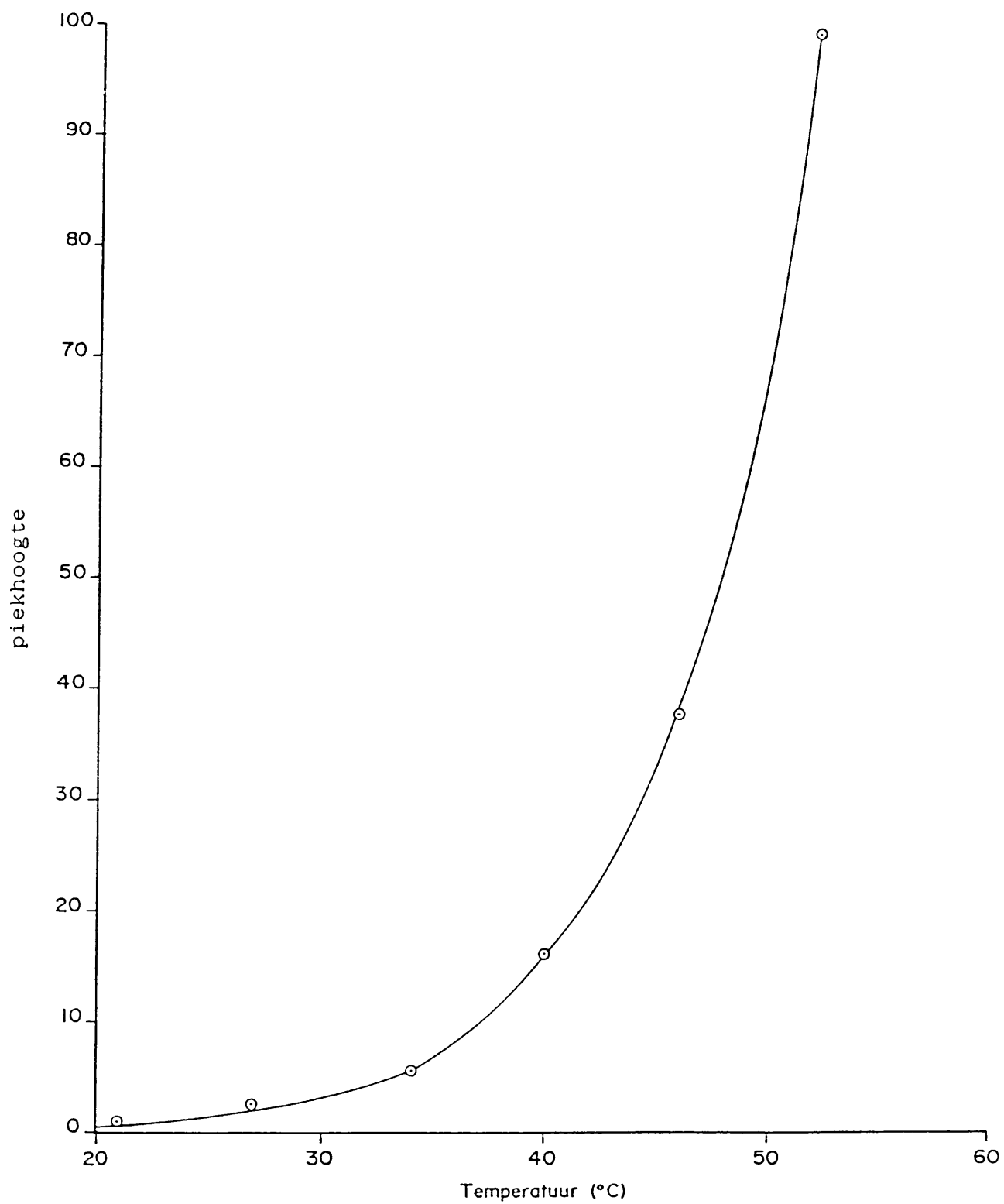
Die grootste probleem wat ondervind is met die ontwikkeling van die indofenolmetode is die lineariteit van die kalibrasiekromme. Die lineariteit is in 'n gebied tussen 0,0 en  $1,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$   $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  ondersoek as 'n funksie van die konsentrasies van natriumnitroprussied, fenol en natriumhidroksied, die temperatuur, lusvolume en die lengte van spiraal  $M_3$ . Daar is gevind dat die lineariteit van die kalibrasiekromme hoofsaaklik afhanklik is van die temperatuur en die natriumnitroprussiedkonsentrasie terwyl die ander veranderlikes 'n kleiner bydrae lewer. Die mees lineêre kalibrasiekromme is verkry by 'n natriumnitroprussiedkonsentrasie van  $3 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  en 'n temperatuur van  $42^\circ\text{C}$ . Figuur 3.4 toon die lineariteit van die kalibrasiekromme onder hierdie kondisies.

3.5 Voorgestelde metode

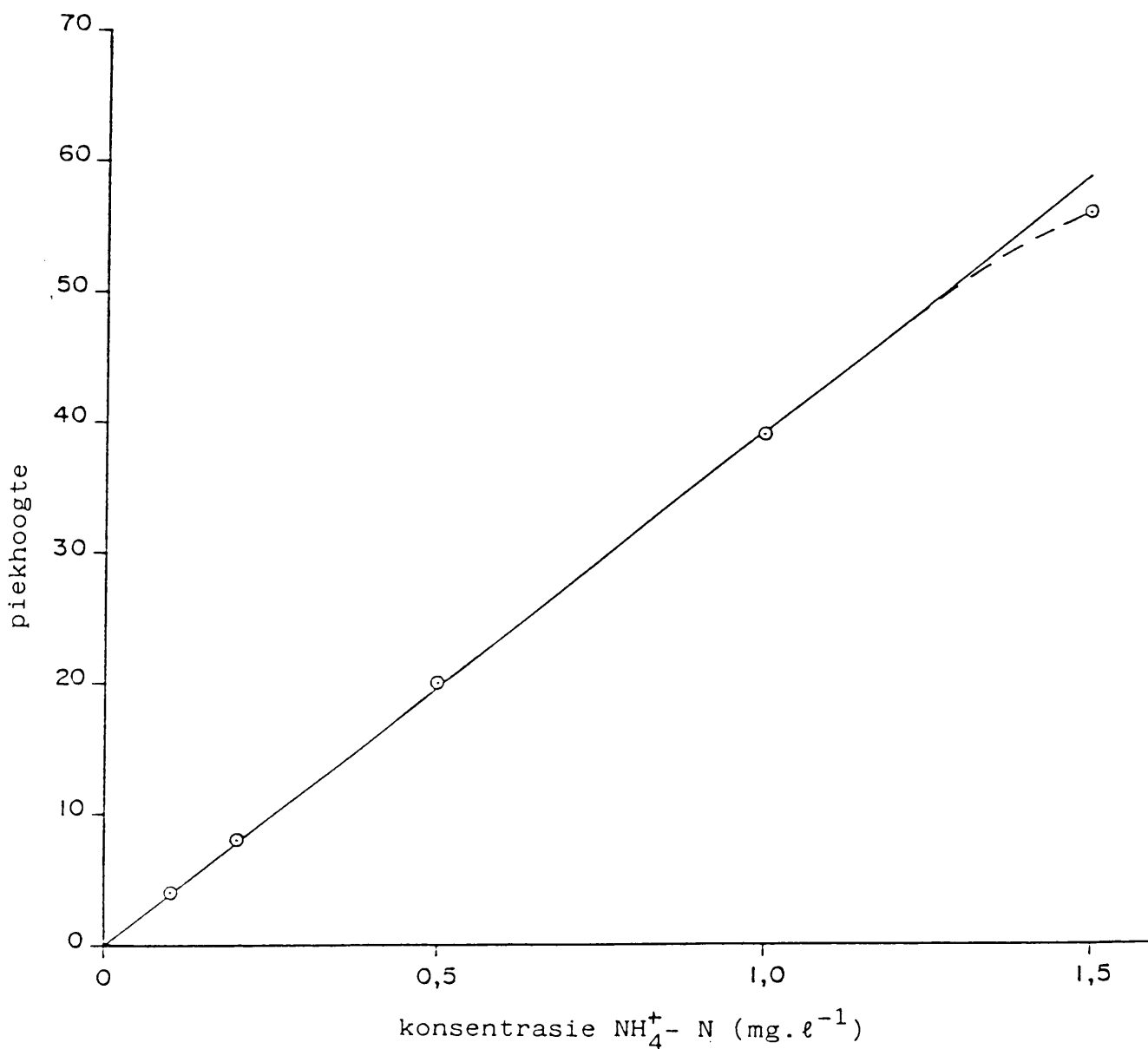
Gedeïoniseerde water en AR-reagense is deurgaans gebruik.

Natriumfenaat

Los 16 g fenol ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ ) op in 33 ml etanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) en verdun tot 50 ml met water. Los 12 g natriumhidroksied ( $\text{NaOH}$ ) op in 50 ml water terwyl die oplossing voortdurend afgekoel word. Meng die bogenoemde twee oplossing, koel af en verdun tot 200 ml met water. Stoor die natriumfenaat in 'n koel plek. Die oplossings moet minstens elke tweede dag berei word.



Figuur 3.3: Die invloed van temperatuur op die sensitiwiteit van die indofenolmetode.



Figuur 3.4: Die lineariteit van die kalibrasiekromme van die indofenolmetode by 'n temperatuur van 42 °C en 'n natriumnitroprussiedkonsentrasie van 3 g.l<sup>-1</sup>.

### Buffer/hipochlorietoplossing

Los 11 g trinatriumsitraat in water op voeg 40 ml kommersiële bleikmiddel (ongeveer  $0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  natriumhipochloriet) daarby. Verdun die oplossing tot 100 ml met water.

### Natriumnitroprussied

Los 0,3 g natriumnitroprussied ( $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) op in 100 ml water.

### Ammoniumstandaarde

Stam-ammoniumoplossing: Los 0,1909 g ammoniumchloried ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) wat vir 2 uur gedroog is by  $105^\circ\text{C}$  op in water en verdun kwantitatief na 1 l met water. Die oplossing bevat  $50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{NH}_4^+\text{-N}$ .

Ammoniumstandaarde: Tabel 3.3 toon die ammoniumstandaardoplossings wat vanaf die stamoplossing berei is.

Tabel 3.3: Ammoniumstandaardoplossings wat berei is deur verdunnings van die stamoplossing te maak.

Ammoniumkonsentrasie ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{NH}_4^+\text{-N}$ )	Volume stamoplossing (ml)	Totale volume (ml)
0,1	2,0	500
0,2	4,0	500
0,5	10,0	500
1,0	20,0	500
1,5	30,0	500

Die standaardoplossings is met  $\text{HgCl}_2$  gepreserveer (elke oplossing bevat  $20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{HgCl}_2$ ).

### 3.6 Evaluering van die voorgestelde metode

#### a. Steurings

Omdat die gekataliseerde indofenolreaksie spesifiek is vir ammonium (Patton en Crouch, 1977) word min steurings verwag. Die reaksie is egter pH afhanklik. By 'n hoë pH vind hidrolise van die ammonium plaas terwyl die reaksie nie by 'n lae pH sal plaasvind nie. Omdat die pH van die reaksie deur die byvoeging van natriumhidroksied verhoog word en deur die trinatriumsitraat gebuffer word, sal pH waardes in oppervlak- en grondwater geen invloed op die reaksie hê nie.

Die invloed van 'n alkaliese pH in terme van alkaliniteit is ondersoek. 'n Ammoniumkonsentrasie van  $0,5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NH}_4^+-\text{N}$  is met die volgende alkaliniteitwaardes berei: 40, 200, 400 en  $800 \text{ mg.l}^{-1} \text{ CaCO}_3$ . Hierdie oplossings sowel as 'n suiwer ammoniumoplossing is geanaliseer en geen betekenisvolle verskille is waargeneem nie. Alkaliniteitswaardes wat strek oor die gebied waarin dit in oppervlak- en grondwater voorkom ( $<800 \text{ mg.l}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ), het gevolglik geen invloed op die metode nie.

#### b. Herhaalbaarheid

Die herhaalbaarheid van die metode is by 'n aantal ammoniumkonsentrasie ondersoek en die resultate word in tabel 3.4 aangedui.

Tabel 3.4: Herhaalbaarheid van die indofenolmetode in 'n konsentrasiegebied tussen 0,1 en  $1,5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NH}_4^+-\text{N}$ .

Ammoniumkonsentrasie ( $\text{mg.l}^{-1} \text{ NH}_4^+-\text{N}$ )	Aantal herhalings	Standaard afwyking (%)	Standaard afwyking ( $\text{mg.l}^{-1}$ )
0,1	10	2,1	0,002
0,5	10	1,9	0,009
1,0	10	1,3	0,01
1,5	10	1,5	0,02

c. Deteksielimiet

Die deteksielimiet van die metode is geneem as drie keer die standaard afwyking van 'n lae ( $0,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{NH}_4^+-\text{N}$ ) standaardoplossing. Die deteksielimiet van hierdie metode was  $0,03 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{NH}_4^+-\text{N}$ .

d. Akkuraatheid

Die akkuraatheid van die metode is bepaal deur die steursplitstegniek. Die konsentrasie van 'n onbekende watermonster is bepaal, gevolg deur die byvoeging van 'n bekende hoeveelheid ammonium. Die konsentrasie is weer eens bepaal en die herwinning is hiervolgens bereken. Die resultate van 'n aantal watermonsters word in tabel 3.5 aangetoon

Tabel 3.5: Die herwinning van ammonium in 'n aantal watermonsters.

Monster	Konsentraat $\text{NH}_4^+-\text{N}$ ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )		Herwinning (%)
	verwag	verkry	
1	1,40	1,45	104
2	0,67	0,70	104
3	0,82	0,78	95
4	0,95	0,99	104
5	0,59	0,56	96
6	0,44	0,45	102

Die persentasie herwinning van al die monsters was in 'n gebied tussen 95-105%.

## e. Oordrag

Die oordrag tussen opeenvolgende monsters is ondersoek. Die oordrag tussen 'n ammoniumkonsentrasie van 1,0 en 'n opeenvolgende ammoniumkonsentrasie van  $0,1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$   $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  is bepaal. By 'n monsterfrekwensie van 120 monsters/h was die oordrag kleiner as 1%.

## 3.7 Bespreking

'n Geskikte metode is ontwikkel om ammonium in 'n gebied tussen  $0,03$  en  $1,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$   $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  te bepaal. Die kalibrasiekromme was lineêr tot by  $1,0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  en het effens afgewyk by die hoër konsentrasies.

Om 'n geskikte sensitiwiteit en 'n aanvaarbare lineariteit van die kalibrasiekromme te verkry, is by 'n temperatuur van  $42^\circ\text{C}$  gewerk. Die sensitiwiteit van die metode by die aanbevole temperatuur ( $42^\circ\text{C}$ ) is uiters temperatuurgevoelig (figuur 3.3). 'n Kritiese vereiste van die metode is dus akkurate temperatuurbeheer.

Die gekataliseerde indofenolmetode is bekend vir die onreëlmatige respons wat dit met ammonium het (Patton and Crouch, 1977). Met die handmetode word selde 'n standaard afwyking van beter as 10% verkry. Hierteenoor lewer die voorgestelde geoutomatiseerde metode 'n standaard afwyking van ongeveer 2% oor die hele konsentrasiegebied.

Die bruin kleur van die natriumnitroprussiedoplossing asook die kleur van die eindproduk is geneig om aan die vloeielsel te akkumuleer. Dit verlaag die herhaalbaarheid van die metode en veroorsaak 'n verskuiwing in die basislyn. Met die gebruik van 'n lae nitraatnitroprussiedkonsentrasie soos wat die geval was met hierdie ondersoek, is die aanpakking op die wande van die vloeielsel aansienlik minder.

#### 4. DIE BEPALING VAN NITRAAT EN NITRIET IN WATER

##### 4.1 Inleiding

Nitraat en nitriet is omkeerbare tussenprodukte van die stikstofkringloop in water. Die voorkoms, bronne en ekologiese belang van stikstof is reeds in die vorige hoofstuk bespreek.

Nitraat kom normaalweg in lae konsentrasies in oppervlakwater voor (Van Vliet en Nell, 1986), terwyl dit effens hoër is in grondwater (Bouwer, 1978). Hoë konsentrasies van hierdie stikstofvorm dui op besoedeling wat hoofsaaklik vanaf riool- en landboukundige aflope afkomstig is (Williams, 1979).

Hierteenoor is nitriet feitlik afwesig in oppervlak- en grondwater weens die gemak waarmee dit na nitraat geoksideer word. Enige betekenisvolle nitrietkonsentrasie is toe te skryf aan die teenwoordigheid van mikrobiologiese aktiwiteit in die water (Boltz en Howell, 1978).

Die gevolge van oormatige nitraat en ander stikstofvorme in water is bekend. Tesame met hoë fosfaatkonsentrasies kan uitermatige alge groei plaasvind wat deoksigenasie van die water veroorsaak. Dit kan lei tot vis-, plant- en dierlewe sterftes in die water.

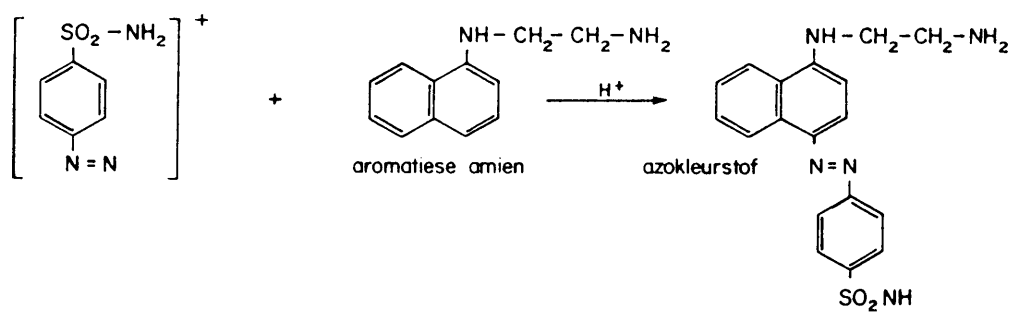
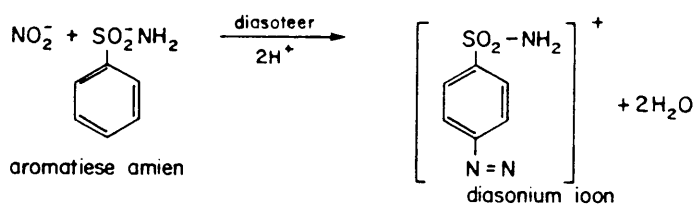
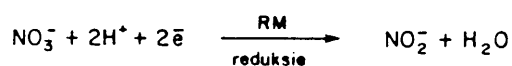
Vinnige, sensitiewe en akkurate metodes vir die bepaling van nitraat en nitriet in water is dus noodsaaklik vir omgewings-, en limnologiese studies.

## 4.2 Analitiese metodes

### 4.2.1 Die bepaling van nitriet

Nitriet word gewoonlik in water bepaal deur 'n gewysigde Shinmetode (Shinn, 1941). Nitriet reageer met 'n primêre aromatiiese amien om 'n diazoniumioon te vorm. Die diazoniumioon koppel met 'n aromatiiese amien en vorm 'n azokleurstof met 'n intense kleur. Die aanvanklike nitrietkonsentrasie is proporsioneel aan die intensiteit van die azokleurstof wat kolometriese bepaal kan word.

Die reaksie kan as volg voorgestel word:



Bogenoemde metode lewer 'n aanvaarbare sensitiviteit met minimum steurings (Anderson, 1978) en is reeds as 'n geoutomatiseerde metode aangepas (Zagatto, Jacinther, Mortatti en Bergamin F°, 1980). Nitriet word dikwels gelyktydig met nitraat deur 'n meervoudige kanaalsisteem bepaal (Anderson, 1979; van Staden, 1982; Giné, Bergamin F°, Zagatto en Reis, 1980).

#### 4.2.2 Die bepaling van nitraat

Die bekendste twee direkte metodes om nitraat in water te bepaal is 'n kolorimetriese metode wat nitraat direk by 'n golflengte van 210 nm bepaal (Slanina, Bakker, Bruijn-Hes en Möls, 1978) en 'n nitraatselektiewe elektrodemetode (Schalscka, Schirado en Vergara, 1981).

Die direkte bepaling van nitraat in water is egter moeilik om die volgende redes:

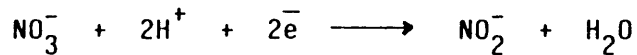
- Relatiewe komplekse prosedures,
- groot kans vir steuring van ander determinante in die reaksie, en
- die beperkte konsentrasiegebied van die verskillende tegnieke (Standard Methods, 1985).

Weens die beperkings van die direkte metodes, is 'n verskeidenheid indirekte metodes ontwikkel om nitraat in water te bepaal (Standard Methods, 1985).

Die kadmiumreduksiemetode word vandag algemeen vir die bepaling van nitraat in water gebruik en is in staat om nitraat in lae konsentrasies te bepaal. 'n Verskeidenheid geoutomatiseerde variasies van die metode is tans in gebruik (Giné et al., 1980; Hendriksen en Selmer-Olsen, 1970; van Staden, Joubert en Van Vliet, 1986).

#### 4.2.3 Die geoutomatiseerde kadmiumreduksiemetode

Nitraat word selektief na nitriet gereduseer gevolg deur die diasotering en koppeling van die nitriet. Die reduksie van nitraat na nitriet in water vind as volg plaas



Reduseermiddels wat reeds gebruik is, is hidrasiensulfaat (Kamphake, Hannah en Cohen, 1967), titaan(III)chloried (Al-Wehand en Townshend, 1986), kwik(II) (Anwar, Farooqui en Zaib-Un-Niza, 1986) en kadmium (van Staden *et al.*, 1986).

Weens die goeie sensitiwiteit van die kadmiumreduksie word kadmium vandag hoofsaaklik as die reduseermiddel gebruik en verskeie variasies hiervan is vir 'n vloei-inspuitsistiem aangepas (Anderson, 1979; Giné *et al.*, 1980; van Staden *et al.*, 1986). Die geoutomatiseerde kadmiumreduksie word bewerkstellig deur 'n kadmiumkolom- (Anderson, 1979) of 'n kadmiumbuisreduktor (van Staden *et al.*, 1986).

Die vernaamste probleem van hierdie metode is die reduksiestap. Goeie voorbereiding en instandhouding van die kadmiumreduktor is dus van kardinale belang om akkurate, herhaalbare en betroubare resultate te kry. Tydens die voorbereiding van 'n reduktor moet daar na 'n hoë omskakelingspersentasie van nitraat na nitriet gestreef word. Nitraat moet egter nie verder as nitriet gereduseer word nie. Persoonlike keuse speel 'n groot rol tydens die voorbereiding, aktivering en handhawing van die reduktor. Soos een navorser gesê het: "However, which kind of reductor to use and how to prepare it, as well as how to control the different conditions governing the reduction process are matters of very different opinion. What seems to be a suitable procedure in the one laboratory does not always function in another. For these reasons it seems for the recent impossible to distinguish one recommended method from the great number of existing modifications" (Nydahl, 1975).

Die katalitiese effek van die koper by die kadmiumreduktor is bekend en by die meeste metodes word dit as katalisator gebruik (Hendriksen en Selmer-Olsen, 1970; Giné *et al.*, 1980). Een van die probleme met die gebruik van die verkoperde kadmiumkolom was om koper eenvormig op die kadmium in die kolom neer te slaan (Lambert en du Bios, 1971).

In beide die reduksie via die verkoperde kadmiumbuis en kadmiumkolom moet die reduktor gereeld geheraktiveer word. Die redes vir die afname in die reduksie-effektiwiteit is die afname in die oppervlakte van die kadmium, die presipitasie van hidroksiede op die kadmium en die reduksie van die suurstof wat die hoeveelheid koper in die buis verminder (van Staden *et al.*, 1986). Dit is dus noodsaaklik om die reduktor te heraktiveer nadat 'n aantal monsters deurgestuur is om 'n geleidelike afname in reduksie-effektiwiteit te verhoed.

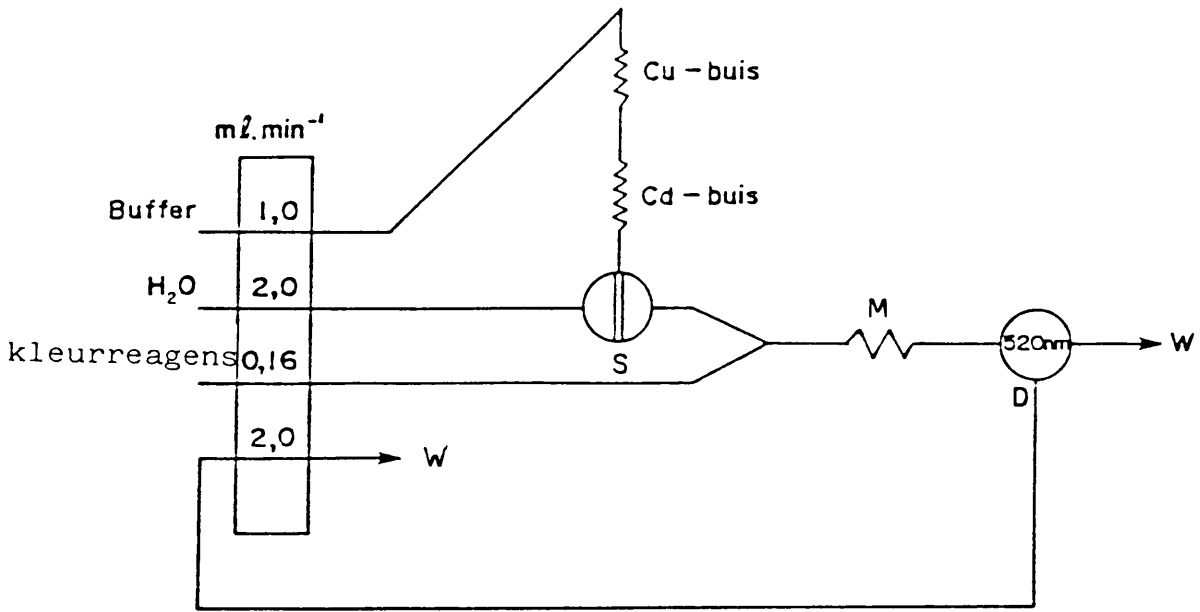
Daar is voorgestel om 'n dun koperbuis voor die reduktor te plaas om genoeg koper vry te stel vir die katalitiese werking. In 'n ondersoek is gevind dat die leeftyd van die reduktor nie slegs langer is nie, maar dat die akkuraatheid ook beter is (van Staden *et al.*, 1986).

#### 4.3 Eksperimentele bepaling van nitraat

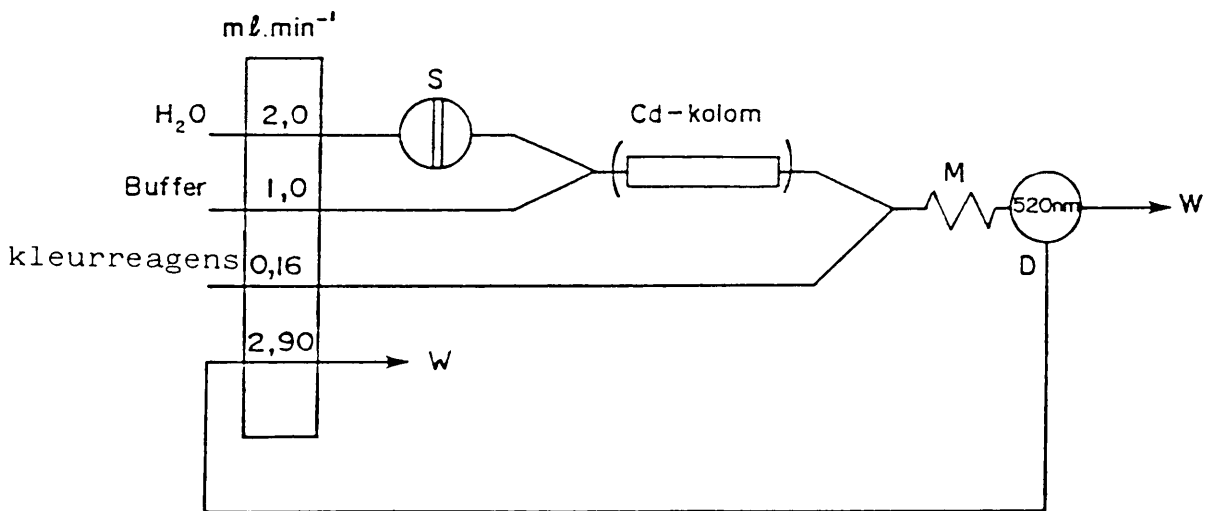
Diagrammatiese voorstellings van die analitiese vloei-sisteme vir die nitraatbepaling word in figuur 4.1 aangedui.

##### 4.3.1 Optimisering van die metodes volgens sensitiwiteit

Die vloei-sisteme is aanvanklik met 'n kadmiumbuis opgestel (fig. 4.1(b)). Die sensitiwiteit van die metode is ondersoek as 'n funksie van die spiraallengte ( $M$ ) en lusvolume.



(a) Die kadmiumbuisreduktor.



(b) Die kadmiumkolomreduktor.

Figuur 4.1: Diagrammatiese voorstelling van die vloeisisteme met (a) 'n kadmiumbuis en (b) 'n kadmiumkolom as reduktor; M = vermengingsspiraal; D = ontborrelaar; S = monsterlus; W = afval.

a. Spiraallengte

Die invloed van die spiraallengte (M) op die sensitiwiteit van die metode is ondersoek in 'n gebied 200 tot 2 000 mm. Tabel 4.1 toon die invloed van die spiraallengte op die sensitiwiteit van die metode aan.

Tabel 4.1: Die invloed van die spiraallengte op die sensitiwiteit van die kadmiumbuismetode.

Spiraallengte (mm)	Piekhoogte
200	64
400	66
800	71
1 200	73
1 600	75
2 000	75

Die sensitiwiteit neem geleidelik toe met langer spiraallengtes (tabel 4.1). By 'n spiraallengte langer as 1 600 mm het die sensitiwiteit egter konstant gebly. 'n Lengte van 1 600 mm is vir verdere studies gebruik.

b. Lusvolume

Die invloed van die lusvolume op die sensitiwiteit van die metode is bepaal en die resultate word in tabel 4.2 aangetoon.

Tabel 4.2: Invloed van die lusvolume op die sensitiwiteit van die kadmiumbuismetode.

Lusvolume ( $\mu\text{l}$ )	Piekhoogte
280	62
460	76
730	85
260	91

Dit is bekend dat 'n toename in die lusvolume 'n groter oordrag tussen opeenvolgende monsters veroorsaak. Aangesien die sensitiwiteit by 'n lusvolume van 1 260  $\mu\text{l}$  bevredigend was (tabel 4.2), is dit vir verdere werk gebruik.

#### 4.3.2 Reduksievermoë van die reduktors

Die reduksievermoë van die reduktors ('n kadmiumbuisreduktor en 'n kadmiumkolomreduktor) is ondersoek deur die aanname te maak dat nitriet nie deur die reduktor verder gereduseer word nie. Die hoogste nitraatstandaard ( $4,0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ NO}_3^- \text{-N}$ ) is deurgestuur gevolg deur die ooreenstemende nitrietstandaard. Die reduksievermoë van die kadmiumbuis en kadmiumkolom is hiervolgens bepaal.

kadmiumbuis - ~60%  
 kadmiumkolom - ~90%

#### 4.3.3 Bepaling van die lineariteit van die kalibrasiekromme

Die lineariteit van die kalibrasiekrommes van die nitraatmetodes volgens van die kadmiumbuis en kadmiumkolomreduktor is bepaal.

(i) Die nitraatreduksie met behulp van die kadmiumbuismetode

Die lineariteit van die kalibrasiekromme is in 'n gebied tussen  $0,1$  en  $4,0 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N ondersoek. 'n Afwyking in die lineariteit het by nitraatkonsentrasies van meer as  $1,0 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N voorgekom. Dit het die vermoede laat ontstaan dat die persentasie nitraat wat gereduseer word, afneem by die hoër nitraatkonsentrasies as gevolg van die onvermoë van die kolom om hoë nitraatkonsentrasies volledig te reduseer.

Die lineariteit van die kalibrasiekromme van die ooreenkomstige nitrietkonsentrasies is bepaal. Die kalibrasiekromme het weer eens van lineariteit afgewyk. Die afwyking van lineariteit kan gevolglik nie aan die reduksievermoë van die reduktor toegeskryf word nie.

Die lineariteit van die kalibrasiekromme is vervolgens ondersoek as 'n funksie van lusvolume en die vloeitempo van die kleurreagens. Die mees lineêre kalibrasiekromme is by 'n lusvolume van  $280 \mu\text{l}$  en 'n vloeitempo van die kleurreagens van  $0,16 \text{ ml.min}^{-1}$  verkry en word in figuur 4.2 aangedui.

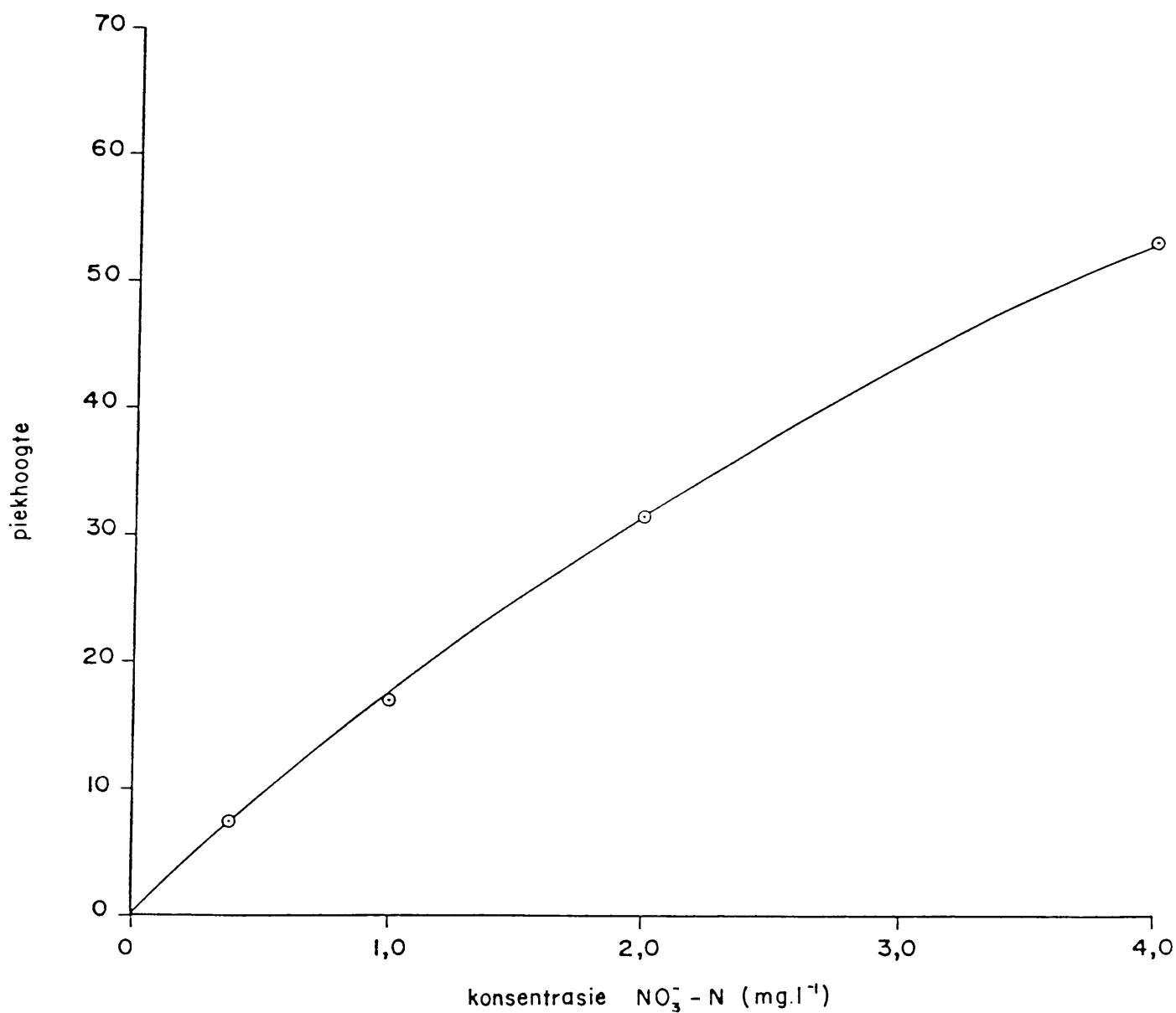
(ii) Die nitraatreduksie met behulp van die kadmiumkolom

Bogenoemde lusvolume en vloeitempo van die kleurreagens is aanvanklik gebruik. 'n Groot afwyking van die lineariteit is by 'n nitraatkonsentrasie van meer as  $0,1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N waargeneem.

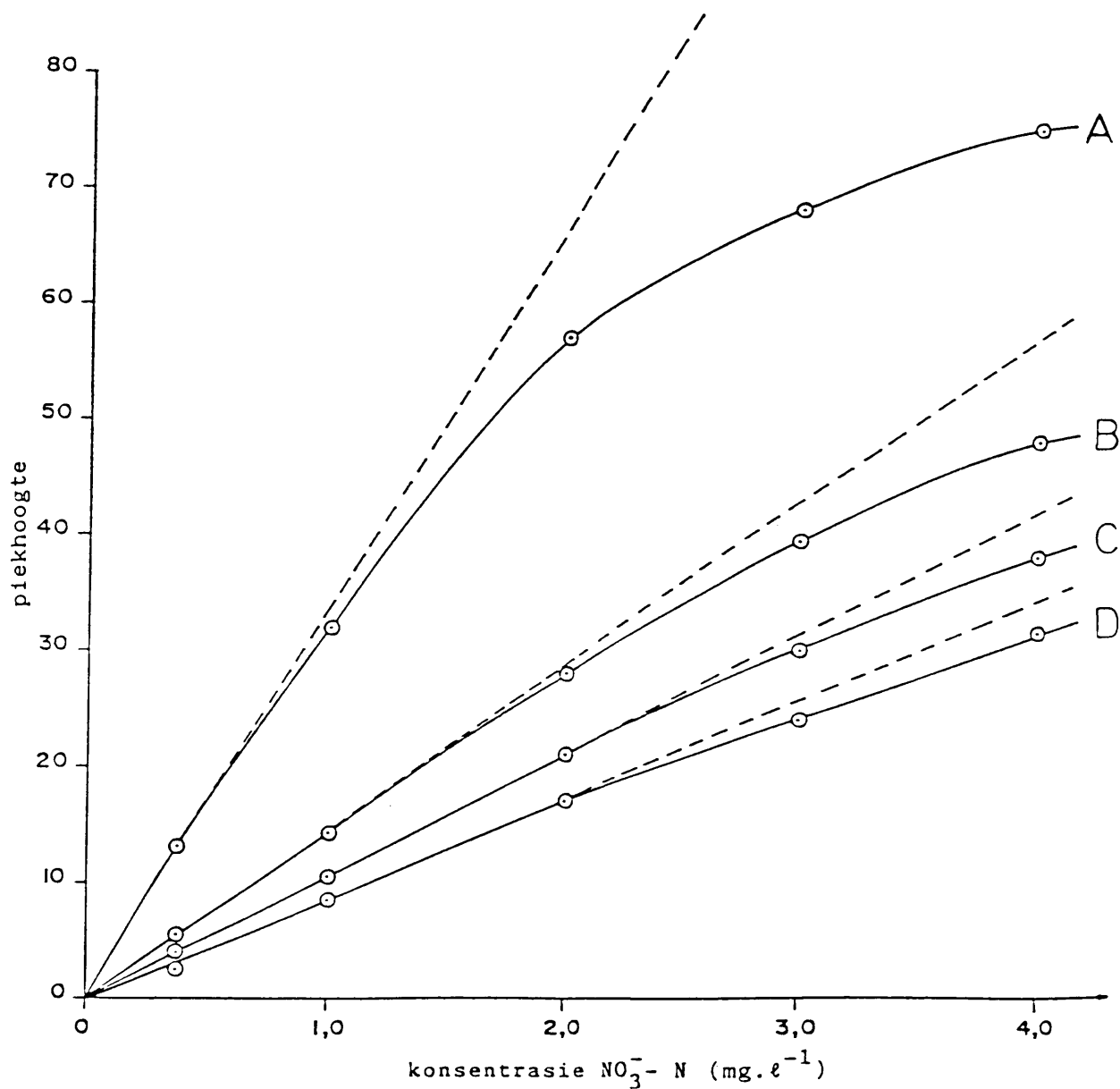
Die groter afwyking in lineariteit, in vergelyking met die kadmiumkolommetode, kan aan die hand van die beter reduksievermoë van die reduktor verklaar word. By die buisreduksie vind slegs  $\sim 60\%$  reduksie plaas terwyl ongeveer  $90\%$  van die nitraat deur die kolom gereduseer word. 'n Groter afwyking van die lineariteit kom gevolglik voor by die vorming van hoër nitrietkonsentrasies.

Die lusvolume is verminder na 'n volume van 50  $\mu\text{l}$  en die lineariteit is bepaal. Daar was egter steeds 'n afwyking by die hoër nitraatkonsentrasies (figuur 4.3).

Die lineariteit is vervolgens ondersoek as 'n funksie van die konsentrasie van die kleurreagens. Die oorspronklike konsentrasie van die kleurreagens is as volg verdun met water: 1:1; 1:2; 1:3, ens. en telkens is die lineariteit bepaal. Die lineariteit van die kalibrasiekrommes van die onderskeie verdunnings word in figuur 4.3 aangetoon.



Figuur 4.2: Die mees lineêre kalibrasiekromme wat by die kadmiumbuismetode verkry is. Lusvolume =  $70 \mu\text{l}$  en vloeitempo =  $0.16 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ .



Figuur 4.3: Die invloed van die kleurreagenskonsentrasie op die lineariteit en sensitiwiteit van die kadmiumkolommetode; Verdunning van die kleurreagens as volg: A = geen verdunning, B = 1:6 verdunning, C = 1:7 verdunning en D = 1:8 verdunning.

Die beste lineariteit is by 'n kleurreagenskonsentrasie-verdunning van 1:7 en 1:8 verkry (figuur 4.3).

Daar is 'n definitiewe afname in sensitiwiteit by die groter verdunnings (figuur 4.3). Om hierdie rede is die 1:7 eerder as die 1:8-verdunning van die kleurreagens gebruik vir verdere eksperimentele werk.

#### 4.3.4 Prosedure van die voorgestelde metodes

Na die optimisering van die sensitiwiteit en bepaling van die beste lineariteit van die kadmiumbuis- en kadmiumkolomreduksie-metodes, is die veranderlikes soos in tabel 4.3 vasgestel.

Tabel 4.3: Die veranderlikes van die vloeisisteme van die kadmiumreduksiemetode met die kadmiumkolom en kadmiumbuis; Buisdeursneë = b.d.

Veranderlike	Buisreduksie	Kolomreduksie
Lusvolume	70 $\mu$ l	50 $\mu$ l
Buisdeursneë	0,58 mm	0,58 mm
Spiraallengte	1 600 mm	1 600 mm
Temperatuur	Kamertemp. (22°C)	Kamertemp. (22°C)
Vloeiempo's	Figuur 4.1(a)	Figuur 4.1(b)
Koperbuis	300 mm (b.d = 0,5 mm)	300 mm (b.d = 0,5 mm)
Reduktor	450 mm Cd-buis (b.d. = 1,0 mm)	100 mm Cd-kolom (b.d. = ~1,2 mm)

#### a. Reagense

AR-reagense en gedeïoniseerde water is deurgaans gebruik.

#### Kleurreagens A

Los 40 g sulfanielamied ( $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{SO}_2\text{NH}_2$ ) en 2 g N-(1-naftiel)-etileendiammoniumchloried ( $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\cdot\text{CH}_3\text{OH}$ ) op in 500 ml water. Voeg 100 ml fosforsuur ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) versigtig by en maak op tot 1 liter met water.

### Kleurreagens B (1:7-verdunning van kleurreagens A)

Voeg 125 ml van oplossing A in 'n bottel en verdun tot 1 l met water.

### Koperoplossing

Los 19 g EDTA (dinatriumsout) en 6,3 g watervrye kopersulfaat ( $\text{CuSO}_4$ ) op in 350 ml water. Stel die pH van die oplossing in by 7,0 met 2  $\text{mol.l}^{-1}$  natriumhidroksiedoplossing (NaOH) en verdun die oplossing tot 500 ml met water.

### Bufferoplossing

Los 30 g ammoniumchloried ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) en 0,20 g EDTA (dinatriumsout) op in 1 liter water. Stel die pH tot by 6,6 met gekonsentreerde ammoniumoplossing ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ).

### Nitraatstandaardoplossings

Droog kaliumnitraat ( $\text{KNO}_3$ ) vir 1 uur by  $105^\circ\text{C}$ . Weeg 0,7255 g  $\text{KNO}_3$  akkuraat af en los in water op. Maak die oplossing op tot 1 l met water. Die oplossing bevat  $100 \text{ mg.l}^{-1} \cdot \text{NO}_3^- \text{-N}$ . Vanaf hierdie oplossing berei 0,1; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 en  $4,0 \text{ mg.l}^{-1} \text{NO}_3^- \text{-N}$ -standaardoplossings.

#### b. Voorbereiding van die reduktors

##### Kadmiumbuisreduktor

Die kadmiumbuisreduktor bestaan uit 'n koperbuis met 'n binnedeursneë (b.d.) van 0,5 mm en lengte van 300 mm, gevolg deur 'n kadmiumbuis (b.d. = 1,0 mm) 450 mm lank. Voor gebruik word 100 ml van die koperoplossing deur die kadmiumbuis

gestuur om 'n koperlagie op die kadmiumkorrels te presipiteer. Dit is belangrik om die buis na 'n aantal herhalings te heraktiveer. Die heraktivering moet gedoen word wanneer die reduksievermoë van die kolom drasties afneem.

#### Kadmiumkolomreduktor

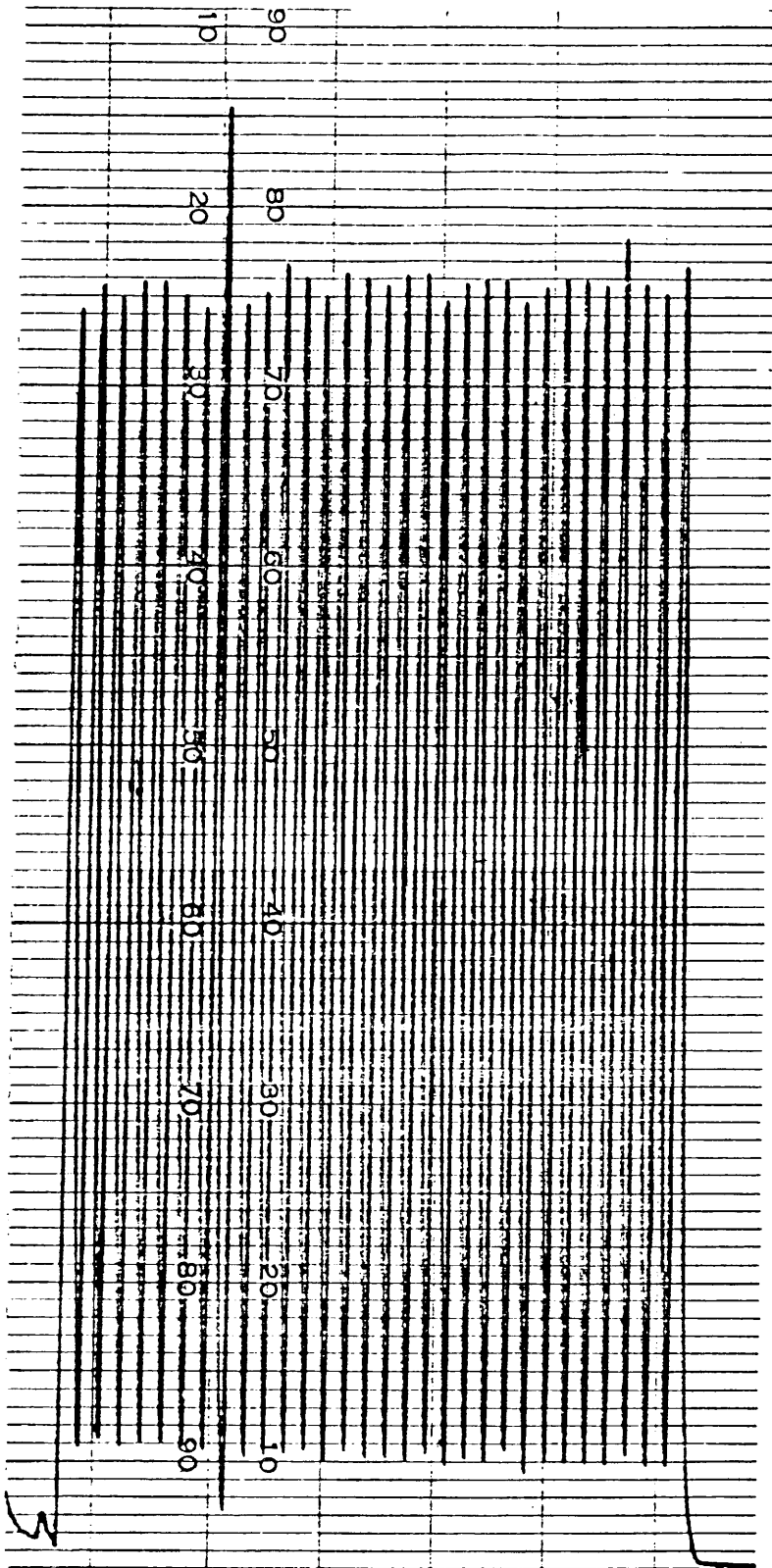
Hierdie reduktor bestaan uit 'n 300 mm koperbuis (b.d. = 0,5 mm) gevolg deur 'n kadmiumkolom met 'n lengte van 100 mm. Die kadmiumkolom is as volg voorberei. Kommerciële kadmiumkorrels ('Merck, cadmium coarse powder G.R.') met 'n deursnee van 0,3 mm tot 1,5 mm is gesif deur 'n 0,5 mm sif. 'n Kolom is gepak deur die neusgedeelte van 'n pasteurpipet met 'n lengte van 100 mm en deursnee van ongeveer 1,2 mm af te sny en te vul met die gesifte kadmiumkorrels. Die opening van die buis is afgesluit met glaswol.

Die kolom is met die kopersulfaatoplossing geaktiveer en heraktiveer op dieselfde wyse as die kadmiumbuis.

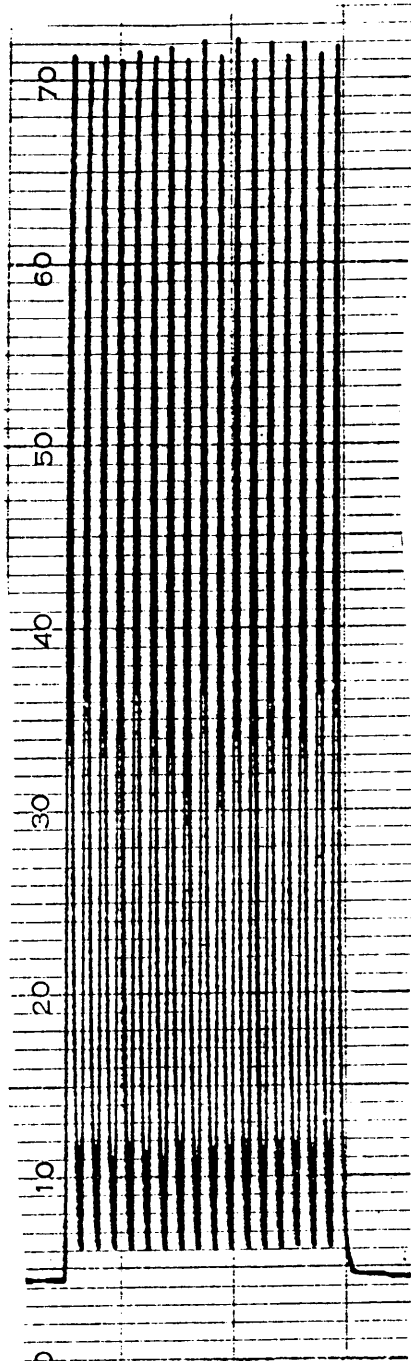
#### 4.3.5 Evaluering van die metodes

##### a. Herhaalbaarheid

Die herhaalbaarheid van die metodes is ondersoek deur die standaard afwyking van 'n aantal herhalings by verskillende nitraatkonsentrasies te bepaal. Die resultate word in tabel 4.4 aangedui.



Figuur 4.4: Registreerderstrookkaart wat 'n aantal opeenvolgende  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \text{ NO}_3^- - \text{N}$  standaardoplossings aandui.



Figuur 4.5: Registreerderstrookkaart wat 'n aantal herhalings van die hoogste nitraatkonsentrasie ( $3.0 \text{ mg} \cdot \ell^{-1} \text{ NO}_3^- \text{ N}$ ) aandui.

Tabel 4.4: Die herhaalbaarheid van die metodes in terme van standaard afwyking van (a) die kadmiumbuismetode, (b) die kadmiumkolommetode (met die aanvanklike kleurreagenskonsentrasie) en (c) die kadmiumkolommetode (met verdunde 1:7 kleurreagenskonsentrasie)

Metode	Nitraatkonsentrasie (mg.l <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N)	Aantal herhalings	Standaard afwyking (%)
(a)	4,0	10	1,43
	1,0	10	1,60
	0,1	10	1,30
(b)	4,0	15	0,20
	2,0	15	0,32
	1,0	15	0,46
	0,4	15	0,80
(c)	4,0	15	0,81
	2,0	15	0,92
	1,0	15	0,71
	0,4	15	0,61

Hoewel 'n goeie herhaalbaarheid met die drie metodes verkry is, moet op die volgende gelet word.

Gedurende die gebruik van die kadmiumbuismetode is daar 'n neiging om op ongereelde tye 'n piek te verskyn wat aansienlik hoër of laer as die gemiddeld van die herhalings was. Figuur 4.4 is 'n registreerderstrookkaart waar so 'n piek voorkom. Die herhaalbaarheid van hierdie metode soos in tabel 4.4 aangedui bevat nie so 'n piek nie.

Met die kadmiumbuismetode (b) en (c) is dit baie belangrik om van twee identiese lusvolumes gebruik te maak aangesien 'n effense verskil die piekhoogte aansienlik beïnvloed. Figuur 4.5 is 'n strookkaartregistreerders wat die effek van 'n effense verskil in lusvolume illustreer.

Figuur 4.6 is 'n registreerderstrookkaart wat drie herhalings van die nitraatstandaardoplossings met die kadmiumkolommetode aantoon.

b. Akkuraatheid

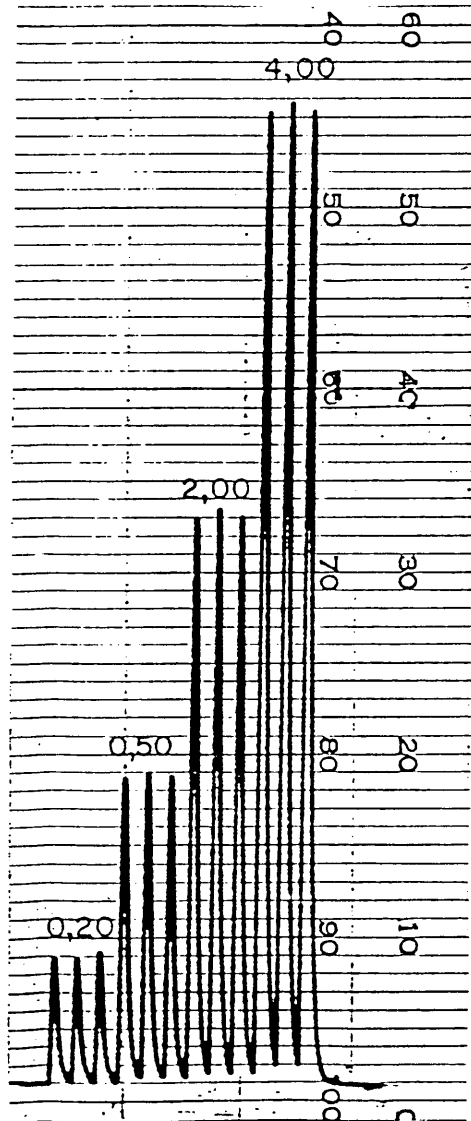
Die akkuraatheid van die metode is bepaal deur die resultate met 'n ander geoutomatiseerde metode te vergelyk en tweedens deur 'n steursplitstegniek.

Die nitraatkonsentrasie van 'n aantal oppervlak- en grondwatermonsters is oor 'n wye konsentrasiegebied bepaal en met 'n gesegmenteerde metode vergelyk. Tabel 4.5 dui die resultate aan.

Tabel 4.5: 'n Vergelyking tussen die nitraatkonsentrasies van monsters volgens die (a) kadmiumbuis metode (b) die kadmiumkolommetode met aanvanklike kleurreagens-konsentrasie, (c) die kolommetode met 'n 1:7-kleurkonsentrasieverdunning en (d) 'n gesegmenteerde metode.

Konsentrasie nitraat volgens VIA-metodes (mg.l <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> -N)			Gesegmenteerde metode (mg.l <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> -N)
(a)	(b)	(c)	(d)
0,36	0,32	0,33	0,33
	0,11	0,11	0,14
<0,05	0,03	0,02	0,03
	0,40	0,43	0,43
0,11	0,12	0,12	0,15
0,93	0,93	0,90	0,94
0,40	0,40	0,40	0,42
3,10	3,13	3,12	3,20

Die resultate van die VIA-metodes het goed met die waardes van die gesegmenteerde metode vergelyk (tabel 4.5).



Figuur 4.6: Registreerderstrookkaart van drie herhalings van nitraatstandaardoplossings in 'n gebied tussen 0.2 en 4.0  $\text{mg} \cdot \ell^{-1} \text{NO}_3^- \text{-N}$ .

Die herwinning is deur 'n steursplitstegniek bepaal. Die nitraatkonsentrasie van 'n watermonster is bepaal, 'n bekende hoeveelheid nitraat is bygevoeg en weereens is die nitraatkonsentrasie bepaal. Die herwinning van die nitraat is hiervolgens bereken. Tabel 4.6 dui die resultate wat verkry is, aan.

Tabel 4.6: Die herwinning van (a) die kadmiumbuismetode (b) die kadmiumkolommetode (c) die kadmiumkolommetode met 'n 1:7-verdunning van die aanvanklike kleurkonsentrasie.

Metode	NO <sub>3</sub> -konsentrasie (mg.ℓ <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> -N)		% Herwinning
	verwag	verkry	
(a)	2,18	2,17	99,5
	2,00	2,05	102,5
	2,06	2,00	97,1
	2,53	2,65	104,7
(b)	1,18	1,16	98,3
	1,05	1,02	97,1
	1,23	1,20	97,6
	1,07	1,06	99,1
	1,43	1,47	102,7
(c)	1,20	1,17	97,5
	1,03	1,02	99,5
	1,23	1,22	99,2
	1,07	1,08	100,1
	1,45	1,47	101,4

#### c. Deteksielimiet

Die deteksielimiet is geneem as drie keer die standaard afwyking by 'n lae nitraatkonsentrasie (1,0 mg.ℓ<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N). Die deteksielimiete van die kadmiumbuis-, kadmiumkolommetode en die kadmiumkolommetode met 'n 1:7 verdunning van die kleurreagens is ondersoek. Die resultate was respektiewelik: 0,01 mg.ℓ<sup>-1</sup> ; 0,02 mg.ℓ<sup>-1</sup> en 0,05 mg.ℓ<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N

d. Steurings

Dit is vanselfsprekend dat nitriet by die kadmiumreduksie-metode sal steur. Die nitraat- plus nitriekonsentrasie word streng gesproke met hierdie metode bepaal. In oppervlak- en grondwater kom nitriet egter in sulke lae konsentrasies voor dat die konsentrasie feitlik uitsluitlik nitraat sal wees.

Wanneer die nitraatkonsentrasie akkuraat bepaal moet word, kan as volg te werk gegaan word. Die konsentrasie van die nitraat plus nitriet word in die teenwoordigheid van die reduktor bepaal. Hierna word die reduktor uit die vloeisisteam weggelaat en die konsentrasie van die nitriet in die monster word bepaal. Die nitraat is gelyk aan die verskil tussen die twee waardes.

Die kleurreaksie wat tydens die Shinmetode plaasvind is baie spesifiek en geen steuring van ander ione kom normaalweg voor nie. Die bepaling van nitraat in die teenwoordigheid van 'n verskeidenheid ione is al uitgevoer. Hoë nitraatherwinnings van hierdie metode is gerapporteer (Hendriksen en Selmer-Olsen, 1970) wat dui op die afwesigheid van betekenisvolle steurings van ander determinante.

Die invloed van metaalione wat normaalweg in water teenwoordig is, is egter ondersoek op die reduksieproses. Drie  $2 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_3^- \text{-N}$  standaardoplossings met  $10 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Fe(II)}$ ,  $\text{Fe(III)}$  en  $\text{Mn(II)}$  respektiewelik is berei. Die piekhoogte van elke standaardoplossing is bepaal en met 'n suiwer  $2 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_3^- \text{-N}$  standaardoplossing vergelyk. Daar was geen betekenisvolle verskil tussen die resultate met beide die kolom- en buisreduktors nie.

Aangesien kwik(II)chloried dikwels gebruik word vir die preserving van monsters, is die invloed daarvan op die metode ook ondersoek. Twee stalle standaardoplossings is berei waarvan die een stel met kwik(II)chloried gepreserveer is (elke oplossing bevat  $20 \text{ mg.l}^{-1}$  kwik(II)chloried), terwyl die kwik(II)chloried by die ander stel standaardoplossings afwesig is. Beide stalle standaarde is geanaliseer (deur die buis- en kolomreduksiemetodes) en geen betekenisvolle verskille is waargeneem nie. Kwik(II)chloried het gevolglik nie 'n invloed op die metode nie.

#### e. Oordrag

Die oordrag wat plaasvind tussen opeenvolgende nitraat-standaardoplossings is ondersoek vir beide die kolomreduksie- en die buisreduksiemetodes. Tabel 4.7 toon die oordrag wat plaasvind by die metodes.

Tabel 4.7: Oordrag wat plaasvind van 'n hoë na 'n lae opeenvolgende monster met (a) die buisreduktor en (b) die kolomreduktor.

Metode	Monster/h	Nitraat ( $\text{mg.l}^{-1} \text{NO}_3^- \text{-N}$ )		Oordrag (%)
		hoë konsentrasie	lae konsentrasie	
(a)	100	4,0	0,5	<1
		1,0	0,1	<1
(b)	100	4,0	1,0	<1
		4,1	0,4	<1
	120	4,0	1,0	<1
		4,0	0,4	<4
	150	4,0	1,0	<4
		4,0	0,4	~15

By 'n monsterfrekwensie van 100 monsters/h was die oordrag tussen 'n hoë nitraatstandaardoplossing ( $4,0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{NO}_3^-$ -N) en 'n standaardoplossing van 10% van die waarde ( $0,4 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{NO}_3^-$ -N) kleiner as 1% vir beide metodes.

By die hoër monsterfrekwensies het die oordrag tussen die opeenvolgende monsters egter toegeneem tot ongeveer 15% by 'n frekwensie van 150 monsters/h. Hierdie hoë monsterfrekwensie kan nuttig wees by monsters wat oënskynlik dieselfde nitraatkonsentrasies het, of waar daar vir die oordrag gekompenseer kan word. Weens die groot variasie in die nitraatkonsentrasie in water is 'n monsterfrekwensie van 100 monsters/h vir verdere werk gebruik.

#### 4.4 Omskakeling van die nitraatvloei-sisteem om nitriet te bepaal

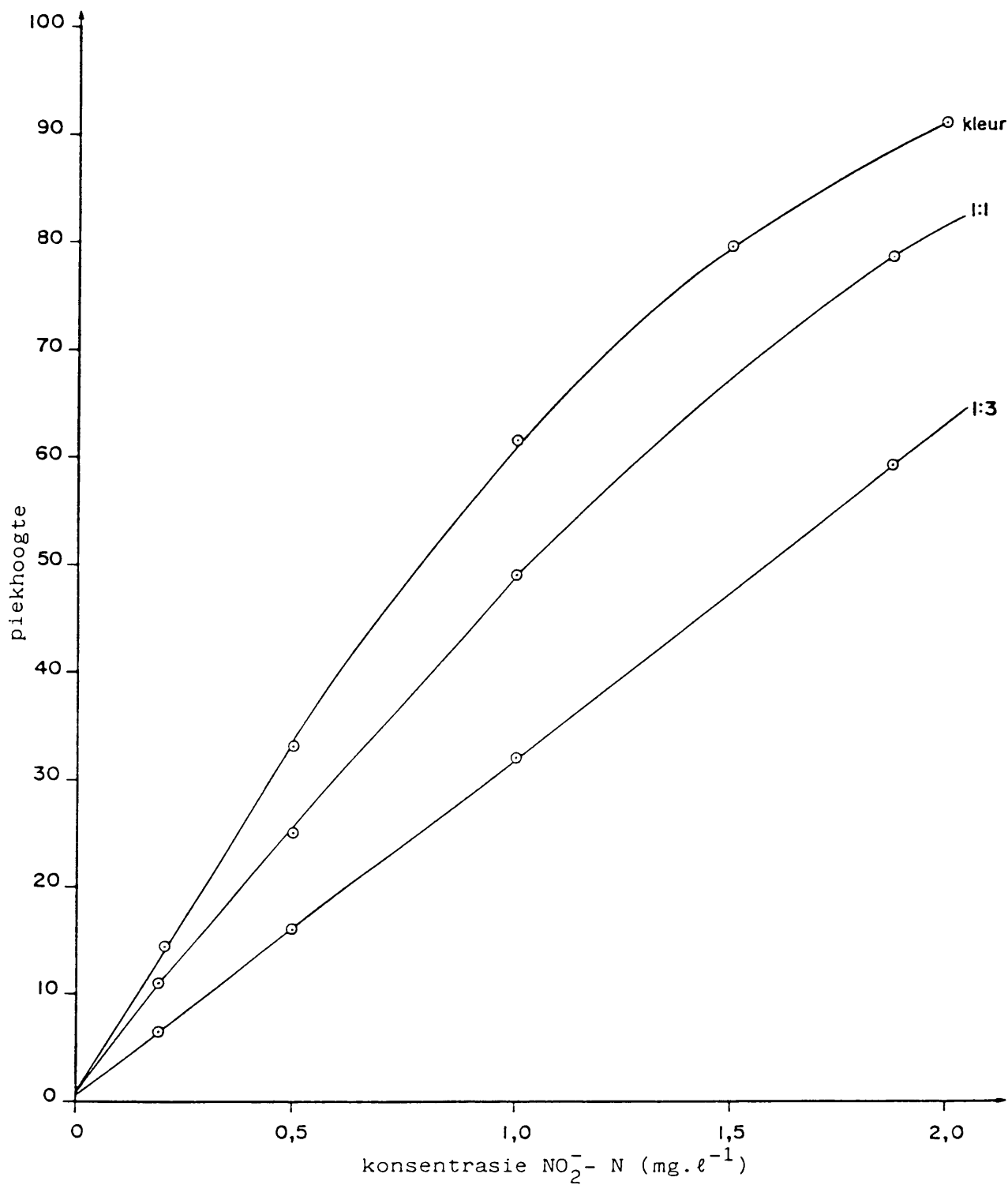
##### a. Optimisering van die lineariteit van die kalibrasiekromme

Die lineariteit van die kalibrasiekromme is in 'n gebied tussen  $0,0$  tot  $2,0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{NO}_2^-$ -N ondersoek. 'n Afwyking vanaf lineariteit is by konsentrasies van groter as  $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{NO}_2^-$ -N waargeneem.

Die vloei-sisteem wat gebruik word, is dieselfde as die kadmiumkolommetode behalwe vir die afwesigheid van die reduktor en die bufferreagens wat met water vervang is.

Deur dieselfde optimiseringsbenadering soos by die nitraatbepaling te gebruik, is die optimum kleurreagens-konsentrasie bepaal. (Die kleurreagens-konsentrasie is stapsgewys verdun en telkens is die lineariteit bepaal).

Figuur 4.7 illustreer die lineariteit van die oorspronklike kleurreagens-konsentrasie sowel as die 1:1- en 1:3-verdunnings daarvan. 'n Lae kleurreagens-konsentrasie verbeter die lineariteit, maar verlaag die sensitiwiteit van die metode. Die kalibrasiekromme is lineêr by 1:3-verdunning van die oorspronklike kleurreagens-konsentrasie hoewel die sensitiwiteit ongeveer 30% laer is.



Figuur 4.7: Die lineariteit van die kalibrasiekromme van nitriet by verskillende kleurreagensverdunnings.

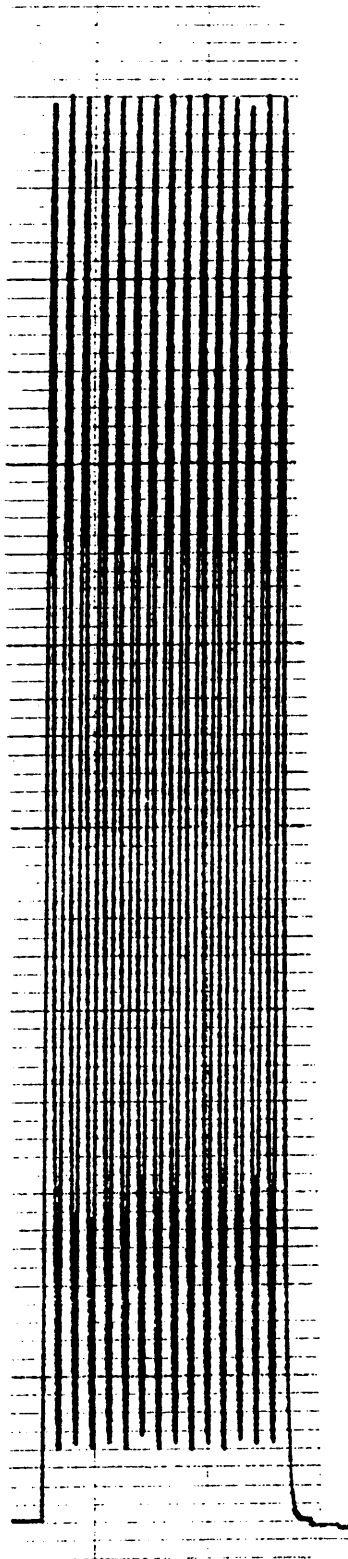
b. Herhaalbaarheid

Die herhaalbaarheid van die metode is by die oorspronklike kleurreagenskonsentrasie en 'n 1:3-verdunning bepaal. Tabel 4.8 toon die resultate van die standaardoplossings in 'n gebied tussen 0,2 en 2,0 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, terwyl figuur 4.8 'n strookkaartregistreerder is, wat van 'n aantal herhalings van die hoogste standaardoplossing by die oorspronklike kleurreagenskonsentrasie illustreer.

Tabel 4.8: Die herhaalbaarheid van die nitrietmetode met (a) die aanvanklike kleurreagenskonsentrasies en (b) 'n 1:3-verdunning van die kleurreagenskonsentrasie.

Nitriet (mg.l <sup>-1</sup> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N)	Standaard afwyking (%)	
	(a)	(b)
0,2	0,76	2,00
0,5	0,64	1,73
1,0	0,26	1,54
2,0	0,14	1,51

Die herhaalbaarheid van die metode was aansienlik beter by die oorspronklike reagenskonsentrasie in vergelyking met die verdunde kleurreagenskonsentrasie (tabel 4.8). Die herhaalbaarheid van die metodes in 'n gebied tussen 0,2 en 2,0 mg.l<sup>-1</sup>.NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N was egter kleiner as 2%.



Figuur 4.8: Registreerderstrookkaart wat die herhaalbaarheid van 'n aantal van die hoogste konsentrasie standaardoplossings ( $2.0 \text{ mg} \cdot \ell^{-1} \text{ NO}_2^- - \text{N}$ ) aandui.

#### 4.5 Bespreking van die nitraat- en nitrietmetodes

Die kadmiumreduksiemetodes het oor voldoende sensitiwiteit beskik om nitraat in oppervlak- en grondwater te bepaal. 'n Nadeel van die metodes was die afwyking van die kalibrasiekrommes van lineariteit by die hoër nitraatkonsentrasies. Hoewel daar aanvanklik vermoed is dat die afwyking aan onvoldoende reduksievermoë van die kolom te wyte is, is dit egter verkeerd bewys deurdat dieselfde neiging by die nitrietbepaling waargeneem is.

Die afwyking van lineariteit van die kalibrasiekrommes is grootliks oorkom deur die verlaging van die gevormde azoproduk. Kleiner lusvolumes en stadiger tempo waarteen die kleurreagens gepomp word, is hiervoor gebruik. Hierdie benadering het egter tot gevolg gehad dat die herhaalbaarheid van die resultate effens verswak het.

Drie variasies van die metode is geëvalueer naamlik:

- a. Die kadmiumbuisreduksiemetode (figuur 4.1a);
- b. die kadmiumkolomreduksiemetode met 'n kadmiumkolom wat in die vloeisisteam ingesluit is (figuur 4.1b); en
- c. die kadmiumkolomreduksiemetode met vermindering van die kleurreagenskonsentrasie.

Tabel 4.9 gee 'n vergelyking tussen die prestasie van die drie metodes.

Tabel 4.9: 'n Vergelyking tussen die prestasie van die drie metodes waarvolgens nitraat bepaal is met (a) kadmiumbuis (b) kadmiumkolom (c) kadmiumkolom met verdunde kleurreagenskonsentrasie.

	(a)	(b)	(c)
Standaard afwyking (%) (hoogste konsentrasies)	1,43	0,20	0,81
Deteksielimiet (mg. l <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> -N)	0,05	0,01	0,02
Monsterfrekwensie (monsters/h)	100	100	100
Steurings	Geen	Geen	Geen
Lineariteit	nie- lineêr	nie- lineêr	feitlik lineêr

Die kadmiumbuis metode het die neiging om uitskieters op ongereelde tye te gee. Hierdie eienskap veroorsaak dat die herhaalbaarheid van die resultate betwyfel word. Omdat die reductor egter nie in die vloeisisteam was nie kon dit van tyd tot tyd heraktiveer word sonder om die aktiveringsreagens deur die hele kanaal te stuur. Die waswater kon selfs met die Cu-oplossing vervang word, maar hierdie moontlikheid is nie ondersoek nie.

Hierteenoor het die kolomreduksie betroubare en herhaalbare resultate gelewer. Die bereiding van die kolom was baie eenvoudig. Heraktivering geskied deur van tyd tot tyd die Cu-oplossing vir 'n paar minute deur die vloeisisteam te pomp.

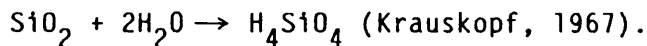
Die nitraatmetode kon maklik omgeskakel word om nitrietbepalings uit te voer. Met die nitrietbepaling is goeie resultate verkry.

## 5. DIE BEPALING VAN SILIKA IN WATER

### 5.1 Inleiding

Silikon kom hoofsaaklik in water voor in opgeloste vorm as silikon(IV)oksied ( $\text{SiO}_2$ ) of as partikulêre silikate (biotiese materiaal, anorganiese en organiese deeltjies). Elementele silikon word oor die algemeen nie gevind nie, terwyl die onreaktiewe polimeriese silika redelik maklik dimeriseer (Wetzel, 1983).

Alhoewel silika normaalweg in verslae oor wateranalise aangegee word as silikon (IV) oksied ( $\text{SiO}_2$ ) is dit waarskynlik as die monomeriese silikonsuur ( $\text{H}_4\text{SiO}_4$ ) by normale temperature en pH-waardes in water teenwoordig. Die reaksie kan soos volg voorgestel word.



Hierdie suur is gewoonlik ongedissosieerd onder die normale pH-waardes in water. Dissosiasie mag wel plaasvind by 'n pH-waarde van groter as 9 (Davis en de Wiets, 1966). Silikon kom naas suurstof die meeste in die aardkors voor, maar is slegs die vierde of vyfde mees opgeloste element in oppervlak- en grondwater (Davis en de Wiets, 1966).

Hierdie skynbare gebrek aan mobiliteit in die hidrosfeer kan toegeskryf word aan die stadige tempo waarteen sekere silikaatminerale ontbind en die swak oplosbaarheid van die verskillende silikavorme in water (Krauskopf, 1967).

In oppervlakwater kom silika normaalweg in 'n konsentrasiegebied van 5 tot 15  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  Si voor (van Vliet en Nell, 1987), terwyl dit in grondwater normaalweg in die orde van 20  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  Si teenwoordig is (Bouwer, 1978). Hierdie konsentrasie kan egter aansienlik hoër wees, byvoorbeeld in water wat in kontak met vulkaniese klip is.

Die silikakonsentrasie van grondwater is 'n belangrike aanduiding van mineraalverwerking en die vorming van kleiminerale (Yokoyama, Hirai, Yoza, Tarutani en Ohashi, 1982).

## 5.2 Analitiese metodes om silika te bepaal

Daar bestaan tans verskeie metodes om silika in water te bepaal. Dit sluit in titrasie (Williams, 1979), gravimetrie (Standard Methods, 1985), voltammetrie (Fogg en Bsebsu, 1981), kolorimetriese (Kurodu, Ida en Kimura, 1985) en spektrofluorimetrie (Linares, Lique de Castro en Valcarcel, 1985).

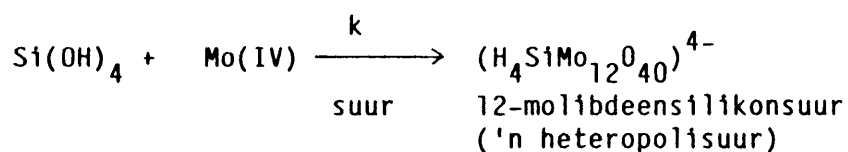
### 5.2.1 Die kolorimetriese silikabepaling

Die metode is gebaseer op die reaksie tussen silika en molibdaat in 'n suurmedium om 'n heteropolisuur te vorm. Die kolorimetriese bepaling van arsenaat, germanium (Chalmers en Sinclair, 1965) en fosfaat (Murphy en Riley, 1962) is op dieselfde beginsel gebaseer.

Hierdie heteropolisuur kan deur 'n geskikte reduseermiddel na 'n produk met 'n intense blou kleur gereduseer word. Beide die geel heteropolisuur en die blou gereduseerde vorm daarvan kan as basis vir die kolometriese bepaling van silika gebruik word.

### 5.2.2 Die geel heteropolisuurmethode

Die reaksie wat tussen silika (in die vorm van silikonsuur) en molibdeen vorm, kan as volg voorgestel word:



Strickland (1952) was die eerste persoon wat die bestaan van 'n  $\alpha$ - en  $\beta$ -isomeer van die heteropolisuur waargeneem het. Sedertdien is heelwat navorsing op die kinetika van die reaksie uitgevoer (Hargis, 1970(a); 1970(b); Chalmers en Sinclair, 1965; 1966; Kurcher en Crouch, 1982)

Strickland (1952) het gevind dat die  $\beta$ -isomeer in 'n aangesuurde oplossing met ten minste 2 mol suur per mol molibdaat vorm, terwyl die  $\alpha$ -isomeer 'n verhouding van kleiner as 3:2 vereis. Daar bestaan egter twyfel oor hierdie suurverhoudings. Hoewel Hargis (1970(a)) bogenoemde stelling bevestig het, het werk van Truesdale en Smith (1975; 1976) hierdie verhoudings weerspreek.

Die  $\alpha$ -isomeer word deur hoër temperature begunstig (Boggaard en Jörgensen, 1985). Omdat die  $\beta$ -isomeer vinniger as die  $\alpha$ -isomeer vorm en 'n hoër kleurintensiteit het, is die meeste kolorimetriese bepalings op die vorming van hierdie isomeer gebaseer. Truesdale en Smith (1976) het egter gevind dat dit onmoontlik is om slegs 'n enkele isomeer in oplossing te berei. Selfs al word die  $\beta$ -isomeer berei, is dit geneig om spontaan na die  $\alpha$ -isomeer om te skakel (Truesdale, Smith en Smith, 1979). Chalmers en Sinclair (1965) het gevind dat aseton nie slegs die vorming van die  $\beta$ -isomeer stabiliseer nie, maar ook die intensiteit van die kleur daarvan verhoog. Hierdie produk word gewoonlik by 400 nm gemeet.

### 5.2.3 Die gereduseerde heteropolibloumetode

Reduksie van die 12-molibdosilikonsuur lewer 'n produk met 'n intense blou kleur. Nog die reaksie wat plaasvind, nog die samestelling van die blou produk wat vorm, kon tot op hede met sekerheid bepaal word. Die  $\alpha$ -isomeer lewer 'n produk met 'n seeblou kleur terwyl 'n produk met 'n diepblou kleur vanaf die  $\beta$ -isomeer gevorm word (Williams, 1979).

Die golflengte waarby maksimum absorpsie plaasvind is by ongeveer 800 nm. Piekmaksima kan egter aansienlik verskil afhangende van die reduseermiddel en die reaksiekondisies. Die produk is al by 'n verskeidenheid golflengtes bepaal (Duce en Yamamura, 1970; Svehla, 1986; Truesdale en Smith, 1976).

#### 5.2.4 Voordele van die heteropolibloumetode bo die geel heteropolisuurmetode

Daar is verskeie voordele verbonde aan die heteropolibloumetode bo die geel heteropolisuurmetode.

- Die heteropolibloumetode het 'n beter sensitiwiteit as die heteropolisuurmetode. Laer silikakonsentrasies kan dus met eersgenoemde metode bepaal word (Yokoyama *et al.*, 1982).
- Die  $\beta$ -isomeer wat tydens die reaksie tussen silika en molibdeen vorm, is onstabiel en word spontaan na die  $\alpha$ -isomeer omgesit. Dit veroorsaak dat die intensiteit van die kleur vinnig afneem (Riley en Skirrow, 1975).
- 'n Verskeidenheid organiese verbindings is geneig om by 'n golflengte van ongeveer 400 nm te absorbeer. Hierteenoor absorbeer die gereduseerde produk in 'n gebied waar daar nie sulke steurings ondervind word nie (Yokoyama *et al.*, 1982)

#### 5.2.5 Die geoutomatiseerde heteropolisuurmetode

Hoewel die geel heteropolisuurmetode al geoutomatiseer is (Hirai, Yokoyama, Yoza, Toshikazu en Shigeru, 1981), word die heteropolibloumetode by die meeste geoutomatiseerde silikabepalings gebruik.

Vloei-inspuitanalise (VIA) is 'n geskikte geoutomatiseerde metode om silika te bepaal aangesien die reaksies met hierdie tegniek nie volledig hoef plaas te vind nie (Borggaard en Jørgensen, 1985). Dit hou ook die voordeel in dat die kritiese kondisies soos reaksietyd, reagenskonsentrasies en temperatuur noukeurig gekontroleer kan word. VIA-metodes is reeds ontwikkel om silika in oppervlakwater (Yokoyama et al., 1982), seewater (Thomsen et al., 1983), grondwater (Borggaard en Jørgensen, 1985) en biologiese monsters (Ogata, Soma, Kishūski, Tanabe en Imanan, 1984) te bepaal.

#### 5.2.6 Keuse van die reduseermiddel

Verskeie reduseermiddels is voorgestel om die heteropolisure te reduseer. Dit sluit in 1-amino-2-naftol-4-sulfoonsuur en waterstofsulfiet (Duceen en Yamamura, 1970), tin(II)chloried (Thomsen et al., 1983) en askorbiensuur (Borggaard en Jørgensen, 1985). Navorsing word tans gedoen om ander reduseermiddels te ondersoek (Svehla, 1986). Tin(II)chloried en askorbiensuur word algemeen as reduseermiddels in geoutomatiseerde metodes gebruik.

Die reaksie waar tin(II)chloried as reduseermiddel gebruik word, verloop aansienlik vinniger as die askorbiensuurreduksie. Daar is gevind dat die reaksie van silika met molibdeen tempo bepalend is as tin(II)chloried gebruik word. Wanneer askorbiensuur as reduseermiddel gebruik word, verloop die reduksie aansienlik stadiger en dra dit ook tot die reaksietempo (Thomsen et al., 1983) by.

Tin(II)chloriedreduksie het egter die volgende nadele:

- a. Tin(II)chloriedreduksie veroorsaak 'n onstabiele basislyn (Boggaard en Jørgensen, 1985). Hierdie basislynverskuiwing is ook by die fosfaatbepaling, waargeneem.
- b. Tydens die tin(II)chloriedreduksie word meer as een produk gevorm met meer as een absorpsiemaksimum (Svehla, 1986).

Omdat silika in relatief hoë konsentrasies in water teenwoordig is, is die askorbiensuur bo die tin(II)chloried as reduseermiddel verkies.

### 5.3 Eksperimenteel

'n Diagrammatiese voorstelling van die analitiese vloeisistiem word in figuur 5.1 aangedui. Die metode is eerstens volgens sensitiwiteit geoptimeer waarna die optimum lineariteit verkry is.

#### 5.3.1 Die sensitiwiteitsoptimiserings

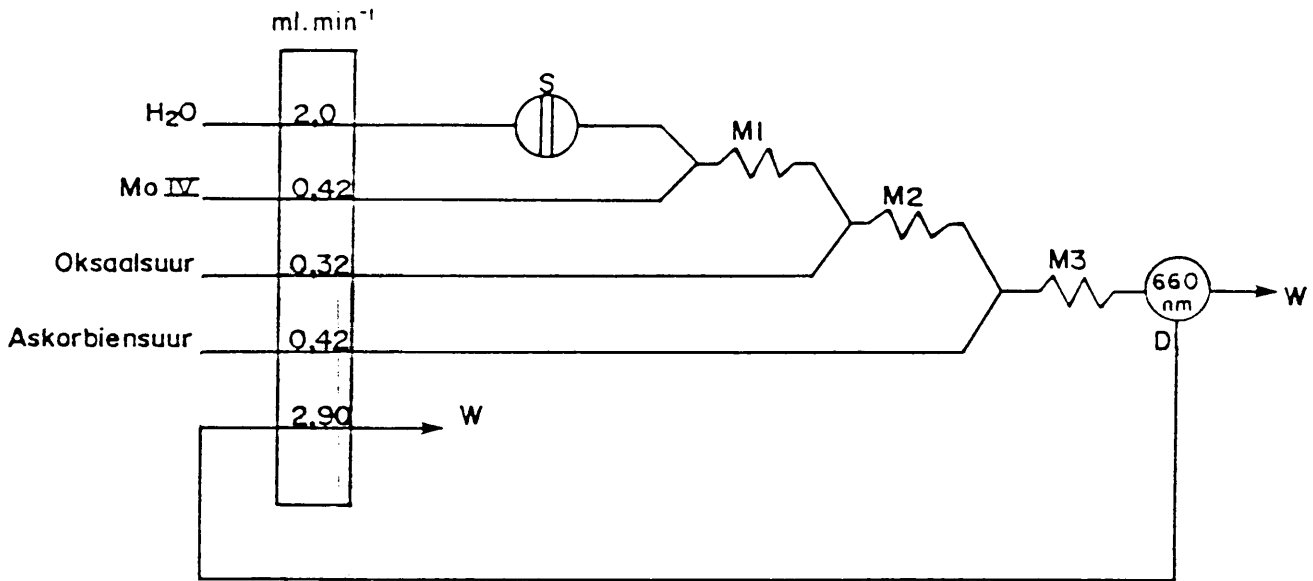
Die invloed van die volgende veranderlikes op die sensitiwiteit van die heteropolisuurmethode is ondersoek:

##### a. Molibdaat- en suurkonsentrasies van die molibdeenoplossing.

Die konsentrasie van die molibdaat (ammoniumheptamolibdaat) is in 'n gebied tussen 60 en 100 g.l<sup>-1</sup> gevarieer, terwyl die sensitiwiteit telkens bepaal is. Tydens die optimisering is die konsentrasie van die swaelsuur (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) konstant gehou. Tabel 5.1 toon die resultate wat verkry is aan.

Tabel 5.1: Die invloed van die molibdaatkonsentrasie op die sensitiwiteit van die heteropolibloumetode.

Ammoniumheptamolibdaat ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (g.l <sup>-1</sup> )	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (c) (mol.l <sup>-1</sup> )	relatiewe piekhoogte
60	0,90	6
70	0,90	16
80	0,90	24
90	0,90	24
100	0,90	18



Figuur 5.1: Diagrammatiese voorstelling van die analitiese-vloeisisteem van die heteropoliblowmetode; S = monsterklep; D = ontborrelaar; M1 - M3 = vermeningspirale met M1 = M2 = 500 mm en M3 = 200 mm; W = afval.

Die optimum sensitiwiteit is verkry by 'n molibdaat-konsentrasie van tussen 80 en 90 g.l<sup>-1</sup>.

Die invloed van die swaelsuurkonsentrasie van die oplossing op die sensitiwiteit is by die optimum molibdaat-konsentrasie ondersoek. Tabelle 5.2a en 5.2b toon die invloed van die swaelsuurkonsentrasie by molibdaat-konsentrasies van 80 g.l<sup>-1</sup> en 90 g.l<sup>-1</sup> aan.

Tabel 5.2a: Die invloed van die swaelsuurkonsentrasie op die sensitiwiteit van die heteropolibloumetode by 'n molibdaatkonsentrasie van 80 g.l<sup>-1</sup>.

Swaeluur (mol.l <sup>-1</sup> )	Relatiewe piekhoogte
0,99	30
0,90	34
0,81	39
0,72	39
0,63	41
0,54	43 (neerslag)

Tabel 5.2b: Die invloed van die swaelsuurkonsentrasie op die sensitiwiteit van die heteropolibloumetode by 'n molibdaatkonsentrasie van 90 g.l<sup>-1</sup>.

Swaeluur (mol.l <sup>-1</sup> )	Relatiewe piekhoogte
0,99	30
0,90	29
0,81	29
0,72	29
0,63	34
0,54	onoplosbaar

'n Afname in die swaelsuurkonsentrasie in beide molibdaat-konsentrasies lei tot 'n toename in die sensitiwiteit van die metode. Die beste sensitiwiteit was by 'n molibdaat-konsentrasie van  $80 \text{ g.l}^{-1}$  en swaelsuurkonsentrasie van  $0,54 \text{ mol.l}^{-1}$ . 'n Ligte neerslag het egter in die vloeisel gevorm. 'n Verhoging van die swaelsuur-konsentrasie na  $0,63 \text{ mol.l}^{-1}$  het egter hierdie probleem oorbrug en is verder in hierdie ondersoek gebruik.

#### b. Askorbiensuurkonsentrasie

Die invloed van die askorbiensuurkonsentrasie op die sensitiwiteit is bepaal deur die askorbiensuurkonsentrasie te varieer in 'n gebied tussen 5 en  $30 \text{ g.l}^{-1}$ . In tabel 5.3 word die resultate aangetoon.

Tabel 5.3: Die invloed van die askorbiensuurkonsentrasie op die sensitiwiteit van die heteropolibloumetode.

Askorbiensuur ( $\text{g.l}^{-1}$ )	Relatiewe piekhoogte
5	58
10	61
20	60
30	57

Die beste sensitiwiteit is by 'n askorbiensuurkonsentrasie van  $10 \text{ g.l}^{-1}$  verkry (tabel 5.3).

#### c. Asetoonkonsentrasie

Die invloed van die asetoonkonsentrasie op die sensitiwiteit van die metode is vervolgens ondersoek. Asetoonoplossing met volumefraksies van 0,01 tot 0,05 asetoon is berei en die sensitiwiteit is telkens bepaal. Daar was geen betekenisvolle toename in sensitiwiteit met 'n toename van die volumefraksie van die asetoon nie.

d. Lusvolume

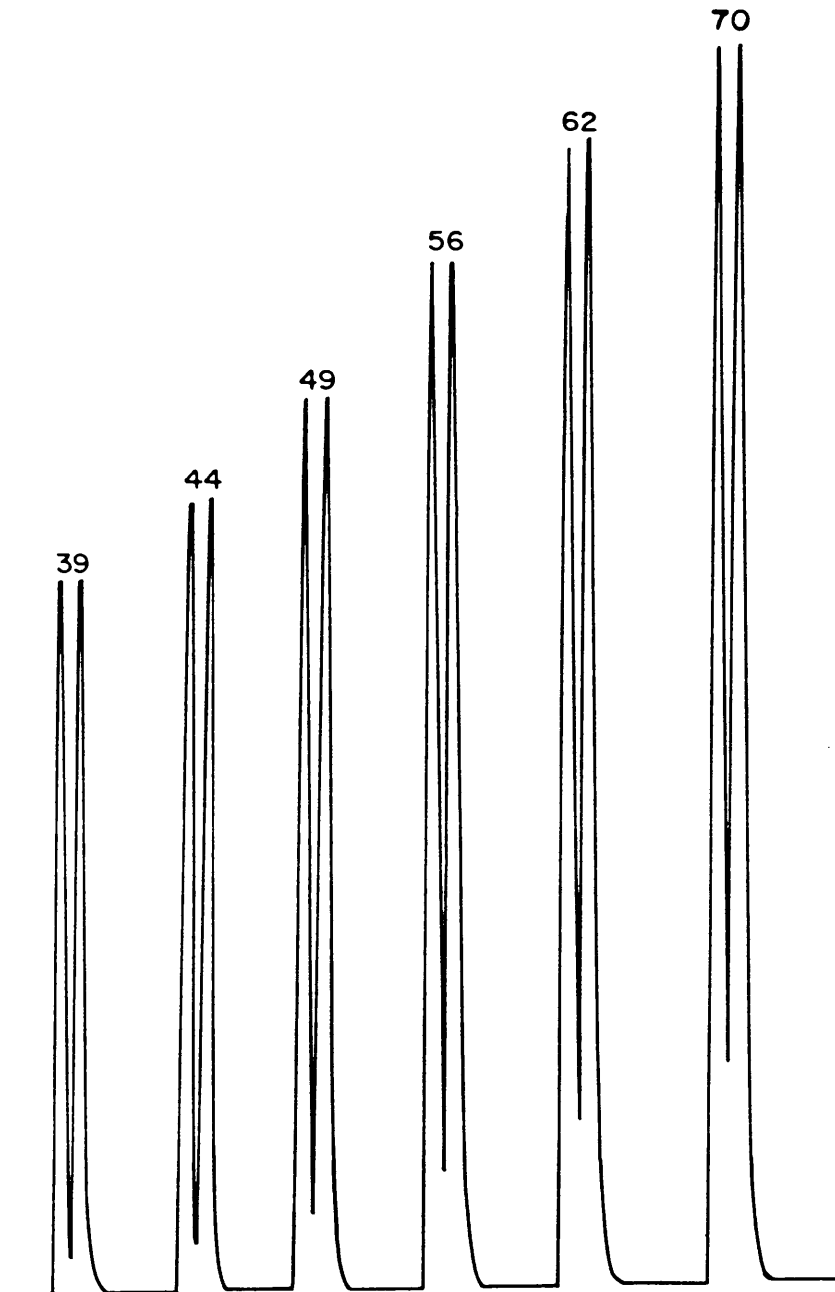
In die algemeen by VIA-metodes veroorsaak 'n toename in die lusvolume 'n verhoging in die sensitiviteit van die metode. Dit het egter ook die nadeel om oordrag tussen opeenvolgende monsters te verhoog en sodoende die monsterfrequentie te verlaag.

Die invloed van lusvolume in die gebied 30 tot 200  $\mu\text{l}$  op die sensitiviteit is bepaal. In tabel 5.4 word die resultate aangetoon.

Tabel 5.4: Die invloed van lusvolume op die sensitiviteit van die heteropolibloometode.

Lusvolume ( $\mu\text{l}$ )	Relatiewe piekhoogte
30	39
50	44
80	49
120	56
160	62
200	68

Alhoewel 'n verdere toename in lusvolume waarskynlik tot hoër sensitiviteit sal lei, het die toenemende verswakking in uitspoel (die vallei tussen opeenvolgende monsters) en dus ook 'n toename in oordrag (figuur 5.2), die lusvolume beperk tot 200  $\mu\text{l}$  (tabel 5.4).



Figuur 5.2: Registreerderstrookkaart wat die invloed van die lus \_  
volume op die sensitiwiteit en piekinteraksie tussen op  
eenvolgende silika standaardoplossings ( $20 \text{ mg} \cdot \ell^{-1} \text{ Si}$ )  
aandui.

e. Spiraallengtes

Beide chemiese reaksies wat tydens die metode plaasvind, verloop stadig. Die askorbiensuurreduksiereaksie is egter die stadigste en is dus die tempobepalende reaksie. Die invloed van spiraallengte ( $M_3$ ) (figuur 5.1) op die sensitiwiteit van die metode is ondersoek. Die resultate word in tabel 5.5 aangedui.

Tabel 5.5: Die invloed van spiraallengte ( $M_3$ ) op die sensitiwiteit van die heteropolibloumetode.

Spiraallengte (mm)	Relatiewe piekhoogte
500	46
1 000	60
1 500	72
2 000	77
2 500	86

Die beste sensitiwiteit is by 'n spiraallengte van 2 500 mm verkry. 'n Toename in spiraallengte veroorsaak egter 'n groter oordrag tussen opeenvolgende monsters, terwyl dit ook 'n verhoging in die druk van die vloeistroom tot gevolg het. Spiraallengtes langer as 2 000 mm het onaanvaarbare hoë druk in die vloeisistiem tot gevolg en daarom is 'n spiraallengte van 2 000 mm vir verdere werk gebruik.

### 5.3.2 Die lineariteit van die kalibrasiekromme

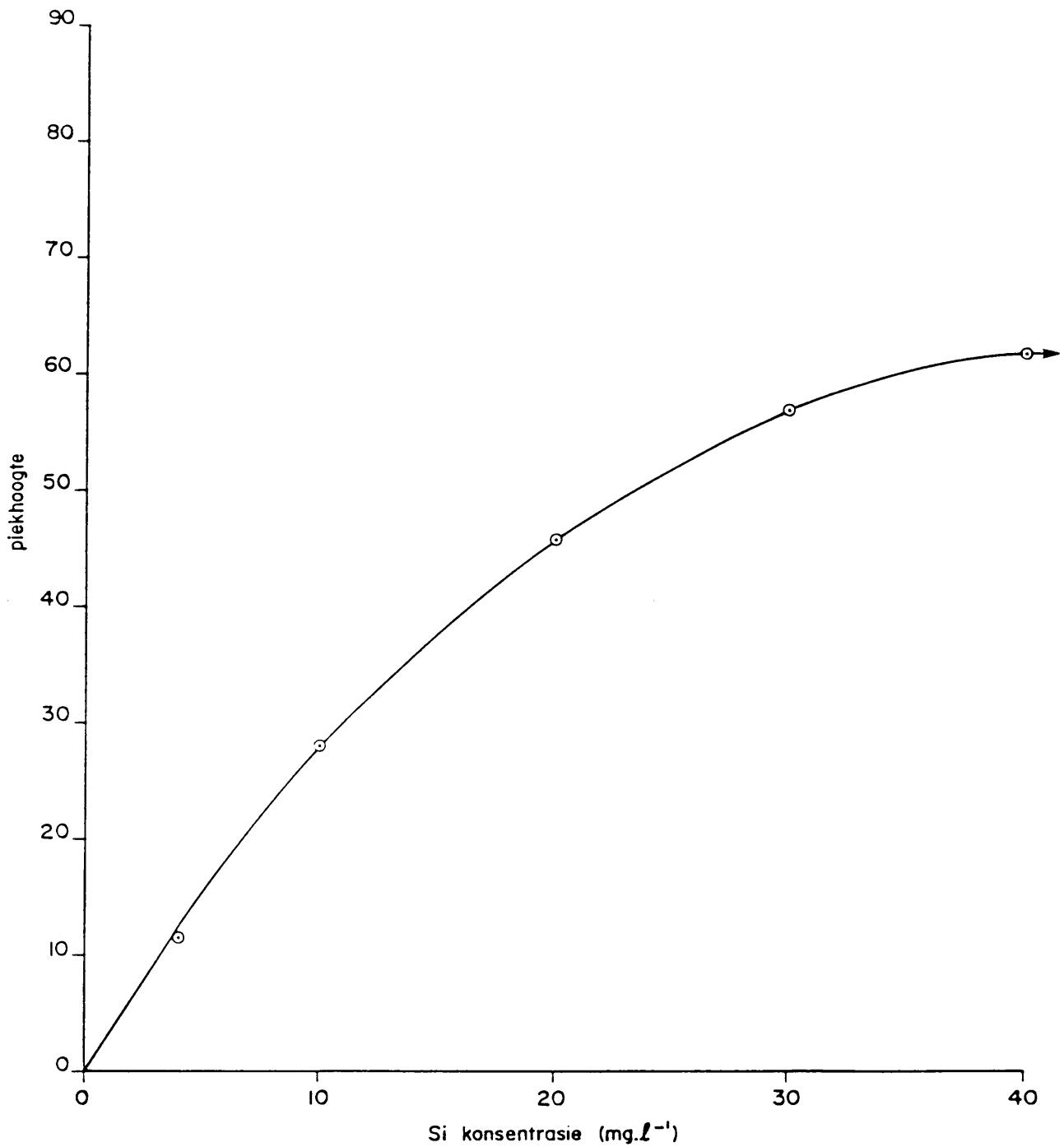
Die lineariteit van die kalibrasiekromme is aanvanklik by die optimum reaksiekondisies bepaal. Figuur 5.3 is 'n grafiese voorstelling van die lineariteit onder hierdie kondisies.

Die lineariteit is ondersoek as 'n funksie van molibdeen-, swaelsuur- en askorbiensuurkonsentrasie, lusvolume, spiraallengtes en temperatuur. Daar is gevind dat die lineariteit van die kalibrasiekromme die meeste deur 'n verandering in die lusvolume beïnvloed word. Die invloed van die lusvolume op die lineariteit van die kalibrasiekromme word in figuur 5.4 aangetoon. 'n Afname in die lusvolume van 80  $\mu\text{l}$  na 50  $\mu\text{l}$  het 'n betekenisvolle verbetering in die lineariteit tot gevolg gehad. Hierdie afname in lusvolume het egter ook veroorsaak dat sensitiwiteit van die metode verlore gaan (figuur 5.4).

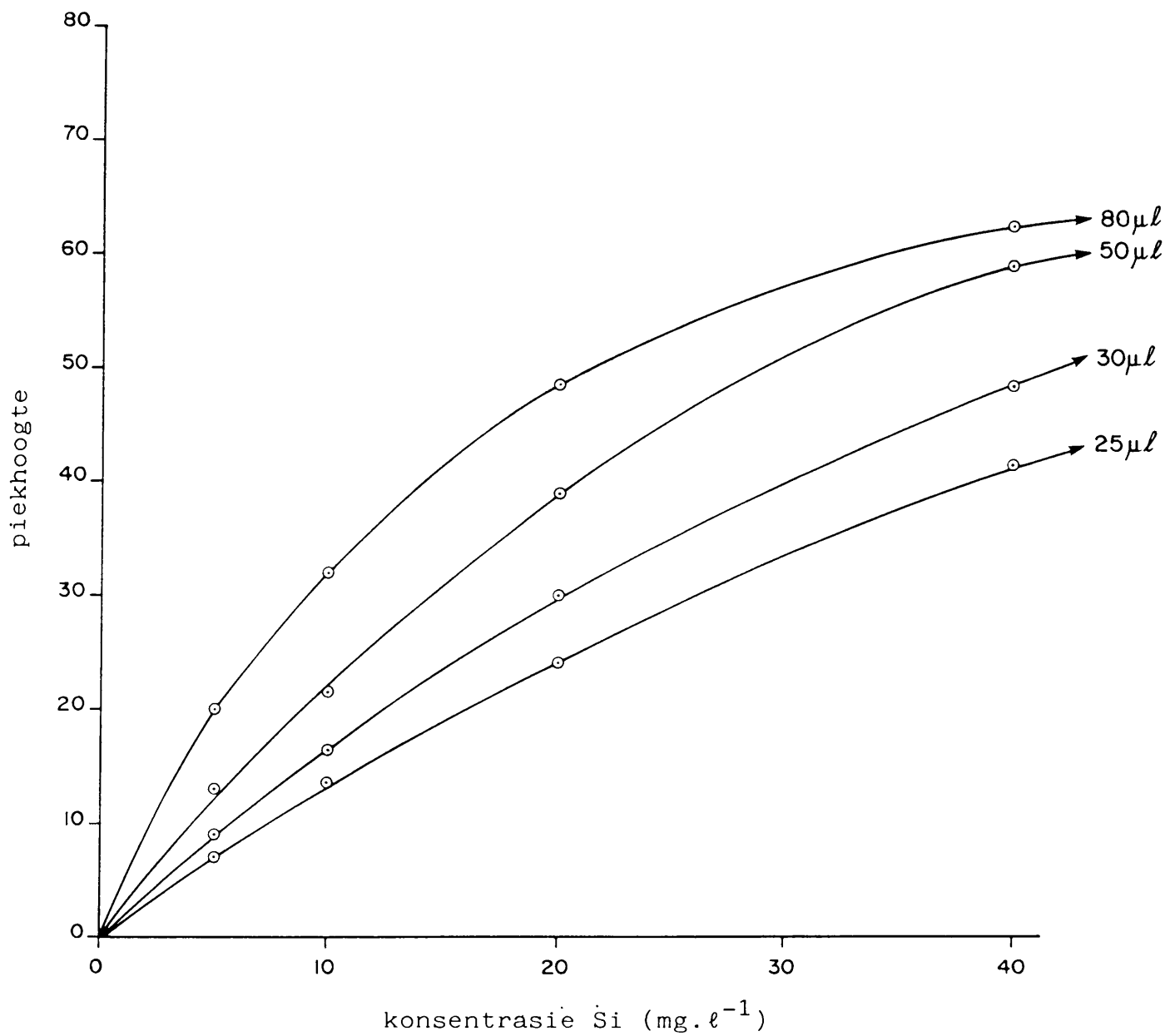
Aangesien die lusvolume nie slegs die lineariteit, maar ook beide die sensitiwiteit en monsteroordrag van die metode beïnvloed, was dit moeilik om 'n optimum lusvolume te bepaal. 'n Aanvaarbare kompromie tussen sensitiwiteit, lineariteit en oordrag was by 'n lusvolume van 90  $\mu\text{l}$  gevind.

### 5.4 Aanbevole metode

Tabel 5.6 toon die veranderlikes soos vasgestel vanaf die voorafgaande ondersoek.



Figuur 5.3: Die lineariteit van die kalibrasiekromme by die optimum reaksietoestande van die heteropolibloumetode; Lusvolume = 200  $\mu\text{l}$ ; Spiraallengte M1 = M2 = 500 mm en M3 = 2000 mm.



Figuur 5.4: Die invloed van die lusvolume op die lineariteit en sensitiwiteit van die heteropolibloumetode.

Tabel 5.6: Die vloeisisteen veranderlikes van die heteropolibloumetode soos vasgestel deur die voorafgaande ondersoek.

Veranderlike	Waarde
Lusvolume	30 $\mu\text{l}$
Spiraal $M_1$	500 mm
Spiraal $M_2$	500 mm
Spiraal $M_3$	2 000 mm
Temperatuur	Kamertemperatuur (22°C)
Buisdeursneë	0,58 mm
Monsterfrekwensie	90 monsters/h

#### 5.4.1 Bereiding van die reagense

Daar is deurgaans AR-reagense en gedeïoniseerde water vir die bereiding van die reagense gebruik.

##### Molibdaatoplossing

Los 8 g ammoniumheptamolibdaat ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) op in  $0,54 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  swael suur (30 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{c})$  in 1 l water) en voeg 5 ml NLS-oplossing daarby. (Die NLS-oplossing word berei deur 15 g natriumlaurielsulfaat in 85 ml water op te los).

##### Askorbiensuur

Voeg 4 ml aseton by 80 ml water en los 1 g askorbiensuur ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ) daarin op. Maak die oplossing op tot 100 ml met water.

##### Oksaalsuur

Los 1 g oksaalsuur ( $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) op in 100 ml water.

### Silikaandaardoplossings

Gebruik 'n kommersiële silikakonsentraat en berei 'n 1 000  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  silikastamoplossing. Vanaf die stamoplossing berei die volgende silikaverdunnings: 2, 4, 5, 10, 20, 30 en 40  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  Si.

#### 5.4.2 Evaluering van die aanbevole metode

##### a. Steurings

Aangesien fosfaat dieselfde molibdeenkompleks met molibdeen vorm, is dit die vernaamste ioon wat by hierdie metode steur. Deur oksaalsuur tydens die reaksie by te voeg word die molibdofosforkompleks ontbind en elimineer dit grootliks die fosfaatsteuring (Chalmers en Sinclair, 1966).

Die invloed van 'n verskeidenheid ione wat moontlik by die metode kan steur, is ondersoek. Tabel 5.7 dui die konsentrasie van dié ione waarby geen steurings ondervind word nie, aan.

Tabel 5.7: Die konsentrasie van die ione wat geen betekenisvolle steurings by die silikabepaling veroorsaak nie.

Ioon	Konsentrasie ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )
$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$	1
$\text{F}^-$	5
$\text{Cl}^-$	500
$\text{SO}_4^{2-}$	240
$\text{NO}_3^-$ -N	10
$\text{Na}^+$	400
$\text{K}^+$	50
$\text{Ca}^{2+}$	200
$\text{Mg}^{2+}$	150

b. Herhaalbaarheid

Die herhaalbaarheid van die metode is bepaal deur 'n aantal silikastandaardoplossings soos aangedui in tabel 5.8, elk 15 keer met behulp van die aanbevole metode te analiseer. Oor die hele konsentrasiegebied het die metode 'n bevredigende herhaalbaarheid gelewer.

Tabel 5.8: Die herhaalbaarheid van 15 herhalings van die heteropolibloumetode i.t.v. standaard afwyking by vier silikakonsentrasies.

Silikakonsentrasie (mg.ℓ <sup>-1</sup> )	Standaard afwyking (%)
2,0	1,34
10,0	0,69
20,0	0,62
40,0	0,52

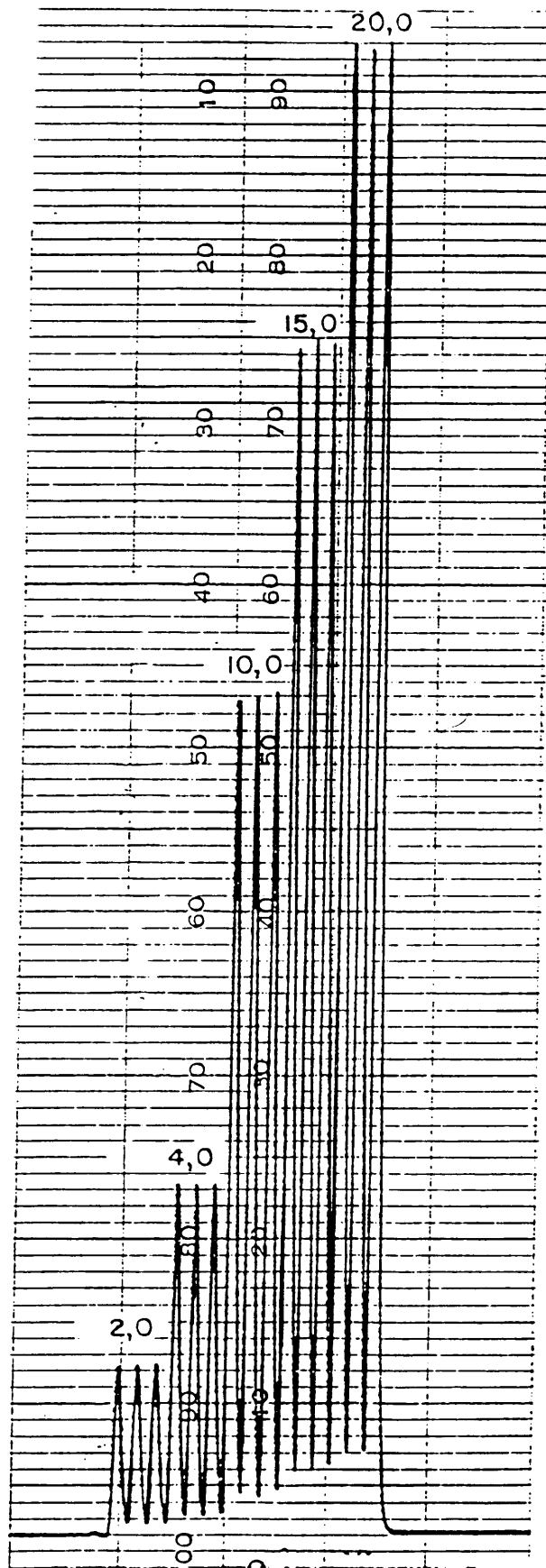
Figuur 5.5 is 'n strookkaartregistreerder wat drie herhalings elk van standaardoplossings in die gebied 2 tot 20 mg.ℓ<sup>-1</sup> Si illustreer.

c. Deteksielimiët

Die deteksielimiët van die metode is geneem as drie keer die standaard afwyking van 'n lae silikakonsentrasie (10 mg ℓ<sup>-1</sup> Si). Die deteksielimiët van die metode was hiervolgens 0,07 mg.ℓ<sup>-1</sup> Si.

d. Oordrag

Die oordrag tussen opeenvolgende monsters is ondersoek deur 'n monster met 'n hoë konsentrasie (20 mg.ℓ<sup>-1</sup> Si) gevolg deur 'n monster met 'n laer konsentrasie (2 mg.ℓ<sup>-1</sup> Si) te analiseer. By 'n monsterfrekwensie van 90 monster/h is die oordrag kleiner as 1%.



Figuur 5.5: Drie herhalings van silikastandaardoplossings in 'n gebied tussen 2.0 en 20.0  $\text{mg.l}^{-1}$  Si.

Tabel 5.10: Die silika herwinnings van 'n aantal monsters wat deur die heteropolibloumetode bepaal is.

Silika ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )		Herwinning (%)
verwag	verkry	
15,40	15,32	99,5
10,17	10,05	98,8
12,30	12,20	99,2
13,83	13,60	98,3
18,30	17,78	97,2

## 5.5 Bespreking

Die aanbevole metode is in 'n gebied tussen 0,07 en  $20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  Si geëvalueer. 'n Goeie herhaalbaarheid (kleiner as 2%) en bevredigende akkuraatheid is verkry, terwyl die deteksielimiet  $0,07 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  Si is. Die kalibrasiekromme het effens van lineariteit afgewyk. Hierdie gebrek aan lineariteit is ook deur ander navorsers gevind (Grasshoff, 1976; Thomsen *et al.*, 1983).

'n Aspek wat duidelik uit die literatuur na vore gekom het, was die relatief lae monsterfrekwensie van die kolorimetriese VIA-metodes. Alhoewel monsterfrekwensies van tussen 80 en 120 per uur normaalweg met VIA-metodes geassosieer word, is die monsterfrekwensie vir geoutomatiseerde silikametodes tussen 60 en 70 per uur (Borggaard en Jörgensen, 1985; Yokoyama *et al.*, 1982). Die verklaring hiervoor is waarskynlik die lang spiraallengtes wat nodig is vir voldoende ontwikkeling van die gekleurde produk. Langer spiraallengtes verhoog die monsteroordrag wat 'n verlaging in monsterfrekwensie tot gevolg het. Met die ontwikkeling van die metode is daarin geslaag om 'n monsterfrekwensie van 90 monsters/h te handhaaf.

Tydens die optimisering van die metode is daar nie gepoog om kondisies te skep om 'n sekere isomeer van die heteropolisuur te laat vorm nie (byvoorbeeld die  $\beta$ -isomeer wat vinniger as die  $\alpha$ -isomeer vorm). Die benadering was om die optimum sensitiwiteit empiries te bepaal deur middel van die univariante optimiseringsmetode.

Hoewel 'n optimum temperatuur van 80 tot 90°C met hierdie metode aangeteken is (Borggaard en Jørgensen, 1985), is 'n geskikte sensitiwiteit verkry sonder om die temperatuur van die reaksie te verhoog. Hoë temperature het die nadeel dat lugblasies kan vorm en die herhaalbaarheid kan benadeel terwyl dit die metode met bykomende apparaat kompliseer.

VERWYSINGS

ANDERSON, L. (1979) Simultaneous spectrophotometric determination of nitrite and nitrate by flow injection analysis., Anal. Chim. Acta, 110, 123-128.

ANWAR, J., FAROOQUI, M.I. en ZAIB-UN-NISA (1986) Indirect determination of nitrate by spectrophotometry, J. Chem. Soc. Pak., 8(4), 475-480.

Al-WEHAID, A. en TOWNSHEND, A. (1986) Spectrophotometric flow-injection determination of nitrate based on reduction with titanium(III) chloride, Anal. Chim. Acta, 186, 289-294.

BABA, Y., YOZA, N. en OHASHI, S. (1984) Simultaneous determination of phosphate and phosphonate by flow injection analysis with a parallel detection system. J. Chromatogr., 295, 153-160.

BASSON, W.D., VAN STADEN, J.F. en CATTIN, P.M. (1981) Determination of phosphorus ( $P_2O_5$ ) as molybdovanadophosphoric acid in phosphate rock with a flow injection procedure, Fresenius Z. Anal. Chem., 307, 373-377.

BERGAMIN F°, H., REIS, B.F., JACINTHO, A.O. en ZAGATTO, E.A.G. (1980) Ion exchange in flow injection analysis: Determination of ammonium ions at the  $\mu\text{g.l}^{-1}$  level in natural waters with pulsed nessler reagent. Anal. Chim. Acta, 117, 81-89.

BERTELOT, M.P. (1959) Verwys deur Tetlow J.A. en Wilson A.L., (1964) An absorptiometric method for determining ammonia in boiler feed-water. Analyst, 89, 453-465.

BOLLETER, W.T., BUSHMAN, C.J. en TIDWELL, P.W. (1961) Spectrophotometric adetermination of ammonia as indophenol. Anal. Chem., 33(4), 592-594.

- BOLTZ, D.F. en HOWEL, J.A. (1978) Colorimetric determination of non-metals. Kpjm Wiley & Sons.
- BORRGAARD, O.K. en JÖRGENSEN, S.S. (1985) Determination of silicon in soil extracts by flow injection analysis. Analyst, 110, 177-180.
- BOUWER, H. (1978) Groundwater Hydrology, McGraw-Hill Kogakusha Ltd., Johannesburg.
- CHALMERS, R.A. en SINCLAIR A.G. (1965) Analytical applications of  $\beta$ -heteropoly acids. Part I. Determination of arsenic, germanium and silicon. Anal. Chim. Acta, 33, 384-390.
- CHALMERS, R.A. en SINCLAIR, A.G. (1966) Analytical applications of  $\beta$ -heteropoly acids. Part II. The influence of complexing agents on selective formation. Anal. Chim. Acta, 34, 412-418.
- DAVIS, S.N. en DE WIEST, R.J.M. (1966) Hydrogeology, John Wiley and Sons Inc. New York.
- DEMING, S.N. en MORGAN, S.L. (1973) Simplex optimization of variables in analytical chemistry, Anal. Chem., 45(3), 278A-283A.
- DEPARTEMENT VAN WATERWESE (1986) Management of the water resources of the Republic of South Africa. Dept. Waterwese, Pretoria.
- DUCE F.A. en YAMAMURA, S.S. (1970) Versatile spectrophotometric method for the determination of silicon. Talanta, 17, 143-149.
- FERNANDEZ, J.A., NIELL, F.X. en LUCENA, J. (1985) A rapid and sensitive automated determination of phosphate in natural waters, Limnol. Oceanogr., 30(1), 227-230.

FOGG, A.G. en BSEBSU, N.K. (1981) Differential-pulse voltammetric determination of phosphate as molybdovanadophosphate at a glassy carbon electrode and assessment of eluents for the flow injection voltammetric determination of phosphate, silicate, arsenate and germanate. Analyst, 106, 1288-1295.

FOGG, A.G. en BSEBSU, N.K. (1982) Flow injection voltammetric determination of phosphate: direct injection of phosphate into molybdate reagent, Analyst, 107, 566-570.

FOGG, A.G. en BSEBSU, N.K. (1984) Sequential flow injection voltammetric determination of phosphate and nitrite by injection of reagents into a sample stream, Analyst, 109, 19-21.

GERHARDT, G. en ADAMS, R.N. (1982) Determination of diffusion coefficients by flow injection analysis. Anal. Chem., 54(14), 2618-2620.

GINÉ, M.F., BERGAMIN F°, H, ZAGATTO, E.A.G. en REIS, B.F. (1980) Simultaneous determination of nitrate and nitrite by flow injection analysis. Anal. Chim. Acta, 114, 191-197.

GRASSHOFF, K. (1976) Methods of seawater analysis, Verlag Chemie, Weinheim.

HARDEN, S.M. en NONIDEZ, W.K. (1984) Determination of orthophosphate by flow injection analysis with amperometric detection. Anal. Chem., 56(12), 2218-2223.

HARGIS, L.G. (1970) Spectrophotometric kinetic study of formation of -12-molybdosilicic acid. Anal. Chem., 42(13), 1494-1497.

HARWOOD, J.E. en HUYSER, D.J. (1970) Some aspects of the phenol-hypochlorite reaction as applied to ammonia analysis. Water Res., 4, 501-515.

- HENDRIKSEN, A. en SELMER-OLSEN, A.R. (1970) Automatic methods for determining nitrate and nitrite in water and soil extracts, Analyst, 95, 514-518.
- HERN, J.D. (1970) Study and interpretation of the chemical characteristics of natural water, 2 Ed., U.S. Geological Survey Water Supply Paper 1473.
- HIRAI, Y., YOKOYAMA, T., YOZA, N., TARUTANI, T. en OHASHI, S. (1981) Flow injection analysis of silicic acid. Bunseki Kagaku, 30, 350-351.
- IVANCIC, I. en DEGOBBIS, D. (1984) An optimal manual procedure for ammonia analysis in natural waters by the indophenol blue method. Water Res., 18(9), 1143-1147.
- JANSE, T.A.H.M., VAN DER WIEL, P.F.A. en KATEMAN, G. (1983) Experimental optimization procedures in the determination of phosphate by flow injection analysis. Anal. Chim. Acta., 155, 89-102.
- JAVIER, A.C., CROUCH, S.R. en MALMSTADT, H.V. (1969) An automated fast reaction-rate system for quantitative phosphate determinations in the millisecond range. Anal. Chem., 41(2), 239-243.
- JOHNSON, K.S. en PETTY, R.L. (1982) Determination of phosphate in seawater by flow injection analysis with injection of reagent. Anal. Chem., 54(7), 1185-1187.
- JØRGENSEN, S.S., PETERSEN, K.M. en HANSEN, L.A. (1985) A simple multifunctional valve for flow injection analysis. Anal. Chim. Acta, 169, 51-57.
- KAPAUAN, A.F. en MAGNO, M.C. (1986) Continuous-flow injector for flow injection analysis. Anal. Chem., 58(2), 509-510.
- KARLBERG, B.I. (1983) Automation of wet chemical procedures using FIA. Am. Lab., 15, 73-77.

KIRCHER, C.C. en CROUCH, S.R. (1982) Determination of formation constants of molybdophosphates in strong acid solution. Anal. Chem., 54(6), 879-884.

KIRCHER, C.C. en CROUCH, S.R. (1982) Kinetics of formation and basic decomposition of  $\beta$ -12-molybdosilicate. Anal. chem., 54(13), 2303-2306.

KOLTHOFF, I. (1961) Treatise on analytical chemistry II. Vol. 3, Interscience, New York.

KRAUSKOPF, K.B. (1967) Introduction to geochemistry, McGraw-Hill Book Company, New York.

KURODA, R., IDA, I. en KIMURA, H. (1985) Spectrophotometric determination of silicon in silicates by flow injection analysis, Talanta, 32(5), 353-357.

LAMBERT, R.S. en DU BOIS, R.J. (1971) Spectrophotometric determination of nitrate in the presence of chloride. Anal. Chem., 43(7), 955-957.

LEONOV, E.A. (1979) Evaluation and forecast of the change in water mineralization in large rivers of the European USSR with consideration of the effect of economic activity. Soviet Meteorology and hydrology. (New York), 3, 59-65.

LINARES, P. LUQUE de CASTRO, M.D. en VALCARCEL, M. (1985) Spectrofluorimetric determination of silicon by flow injection analysis. Anal. Chim. Acta, 177, 263-266.

LUTWAK, H.K. (1953) The photometric determination of phosphorus in copper-based alloys containing tin. Analyst., 78, 661-665.

MANN, L.T. (1963) Spectrophotometric determination of nitrogen in total micro-kjeldahl digests: Application of phenol-hypochlorite reaction to microgram amounts of ammonia in total digest of biological material. Anal. Chem., 35(13), 2179-2182.

MOTOMIZU, S., WAKIMOTO, T. en TÔEI, K. (1983) Determination of trace amounts of phosphate in river water by flow injection analysis. Talanta, 30(5), 333-338.

MURPHY, J. en RILEY, J.P. (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Anal. Chim. Acta., 27, 1431-36.

NOBLE, E.D. (1955) Determination of trace kjeldahl nitrogen in petroleum stocks. Anal. Chem., 27(9), 1413-1416.

NOWICKA-JANKOW, T., GOREZYNSKA, K., MICHALIK, A. en WIETESKA, E. (1986) Analytical visible and ultraviolet spectrometry. Elsevier, Asterdam.

NYDAHL, F. (1976) On the optimum conditions for the reduction of nitrate to nitrite by cadmium, Talanta, 23, 349-357.

OGATA, K., SOMA, S. KOSHIISHI, I., TANABE, S. en IMANARI, T. (1984) Determination of silicate by flow injection analysis coupled with suppression column and solvent extraction system, Bunseki Kagaku, 33, E535-E538.

PAINTON, C.C. en MOTTOLA, H.A. (1981) Chemical kinetic contributions to practical dispersion in flow injection analysis. Anal. Chem., 53(11), 1713-1715.

PATTON, C.J. en CROUCH, S.R. (1977) Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal. Chem., 49(3), 464-469.

PILOSOF, D. en NIEMAN, T.A. (1982) Microporous membrane flow cell with nonimmobilized enzyme for chemiluminescent determination of glucose. Anal. Chem., 54(11), 1698-1701.

RANGER, C. (1981) Flow injection analysis. Principles, Techniques, Applications, Design. Anal. Chem., 53(1), 20A-32A.

RILEY, C. en ROCKS, B.F. (1983) Comments: Flow injection analysis - The end of the beginning? Segmented-flow analysis - The beginning of the end? J. Autom. Chem., 5(1), 1-3.

RILEY, J.P. (1953) The spectrophotometric determination of ammonia in natural waters with particular reference to sea water. Anal. Chim. Acta, 9, 575-589.

RILEY, J.P. en SKIRROW, G. (1975). Chemical Oceanography, 2 Ed. Academic Press, London.

RUSSEL, J.A. (1944) The colorimetric estimation of small amounts of ammonia by the phenol-hypochlorite reaction. J. Biol. Chem., 156, 457-461.

RUZICKA, J. (1983) Flow injection analysis. From test tube to integrated microconduits. Anal Chem., 55(11), 1040A-1053A.

RUZICKA, J. en HANSEN, E.H. (1975) Flow injection analyses, Part I, A new concept of fast continuous flow analysis. Anal Chim. Acta, 78, 145-157.

RUZICKA, J. en HANSEN, E.H. (1978) Flow injection analysis. Part X. Theory, techniques and trends. Anal. Chim. Acta, 99, 37-76.

RUZICKA, J. en HANSEN, E.H. (1979) Stopped flow and merging zone - a new approach to enzymatic assay by flow injection analysis. Anal Chim. Acta, 106, 207-224.

RUZICKA, J. en HANSEN, E.H. (1981) Flow injection analysis. John Wiley en Sons, New York.

RUZICKA, J. en STEWART, J.W.B. (1975) Flow injection analysis, Part II, Ultrafast determination of phosphorus in plant material by continuous flow spectrophotometry. Anal Chim. Acta., 79, 79-91.

SCHALSCHA, E.B., SCHIRADO, T. en VERGARA, I. (1981) Flow injection analysis of nitrate in soil extracts - evaluation of a nitrate-selective flow electrode method. Soil Sci. Soc. Am. J., 45, 446-448.

SCHICK, K.G. (1984) High speed, on-stream acid-base titration utilizing flow injection analysis. Adv. Instrum., 39, 279-281.

SELMER-OLSEN, A.R. (1971) Determination of ammonium in soil extracts by an automated indophenol method. Analyst, 96, 565-568.

SHINN, M.B. (1941) Colorimetric method for determination of nitrite, Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.), 13, 33-35.

SLANINA, J., BAKKER, F., BRUIJN-HES, en MÖLS, J.J. (1978) Fast determination of nitrate in small samples of rain and surface waters by means of U.V. spectrophotometry and flow injection analysis. Fresenius Z. Anal. Chem., 289, 38-40.

SNYDER, L.R. (1980) Continuous-flow analysis: Present and future. Anal. Chim. Acta, 114, 3-18.

STANDARD METHODS (1985) Standard Methods for the examination of water and wastewater deur American Public Health Association, American Water Works Association en Pollution Control Federation. 16 ed. American Public Health Association, Washington.

STEWART, J.W.B., RUZICKA, J., BERGAMIN F° en ZAGATTO, E.A. (1976) Flow injection analysis: Part III. Comparison of continuous flow spectrophotometry and potentiometry for the rapid determination of the total nitrogen content in plant digests. Anal. Chim. Acta, 81, 371-386.

STEWART, K.K. (1983) Flow injection analysis. New tool for old assays. New approach to analytical measurements. Anal. Chem., 55(9), 930A-940A.

TRUESDALE, V.W., SMITH, P.J. en SMITH, C.J. (1979) Kinetics of  $\alpha$ - and  $\beta$ -molybdosilicic acid formation. Analyst, 104, 897-918.

VALCARCEL, M. en LUQUE de CASTRO, M.D. (1987) Flow injection analysis: Principals and applications, translated from Spanish by A. Losada, Ellis Horwood Ltd., Chichester.

VAN SON, M., SCHOTHORST, R.C. en DEN BOEF, G. (1983) Determination of total ammoniacal nitrogen in water by flow injection analysis and a gas diffusion membrane. Anal Chim. Acta, 153, 271-275.

VAN STADEN, J.F. (1978) Ongesegmenteerde analitiese kontinue vloeisisteme, DSc tesis, Univ. van Pretoria.

VAN STADEN, J.F. (1981) Some application aspects of flow-injection analysis 182nd American Chemical Society National Meeting New York, N.Y., USA. August 23-28, 1984 Abstract ANYL 23.

VAN STADEN, J.F. (1982) Automated simultaneous determination of nitrate and nitrite by pre-value reduction of nitrate in a flow injection system., Anal. Chim. Acta., 138, 403-408.

VAN STADEN, J.F. (1982) Automated prevalue sample filtration in flow injection analysis: Determination of sulphate in water removing suspended solids and colour before sampling. Fresenius Z. Anal Chem., 312, 438-440.

VAN STADEN, J.F., JOUBERT, A.E. en VAN VLIET, H.R. (1986) Flow injection determination of nitrate in natural waters with copper- en copperised cadmium tubes in the reaction manifold system., Fresenius Z. Anal. Chem., 325, 150-152.

VAN VLIET, H.R. en NELL, U. (1986) Surface water quality of South-Africa. The Vaal River catchment: 1979-1983. Technical Report TR131. Dept. of Water Affairs, Pretoria.

WETZEL, R.G. (1983) *Limnology*, 2 Ed. Saunders College Publ. New York.

WILLIAMS, W.J. (1979). *Handbook of anion determination*, Butterworth en Co. (Publ.), London.

WILSON, A.L. (1979) Approach for achieving comparable analytical results from a number of laboratories. *Analyst*, 104, 273-289.

YOKOYAMA, T., HIRAI, Y, YOZA, N., TARUTANI, T. en OHASHI, S. (1982) Spectrophotometric determination of silicic acid by flow injection analysis. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 55, 3477-3481.

ZADOROJNY, C., SAXTON, S. en FINGER, R. (1973) Spectrophotometric determination of ammonia. *J. Wat. Pollut. Control. Fed.*, 45(5), 905-912.

ZAGATTO, E.A.G., JACINTHO, A.O., MORTATTI, J. en BERGAMIN F°, H. (1980) An improved flow injection determination of nitrite in waters by using intermittent flows. *Anal Chim. Acta.*, 120, 399-403.