

## Gesamtstickstoffgehalt in einer Wasserprobe

Der Gesamtstickstoffgehalt (GN oder Totalstickstoff TN) ist die Summe der Atome dieses Elements unabhängig von Kompartiment, Oxidationsstufe, Bindungsform und Verfügbarkeit für die Organismen. Er umfasst den verfügbaren anorganischen N (DIN als Summe aus Ammonium, Nitrit, Nitrat, Harnstoff), gelöste organische N-haltige Verbindungen (Amine, Aminozucker, Aminosäuren, DNA) und den gesamten in der Biomasse gebundene Stickstoff. TN wird auch  $TN_b$  (gebundener N) genannt.

Zur Bestimmung des TN müssen alle gebundenen, gelösten und partikulären Stickstoffverbindungen in Nitrat überführt werden. Das erfolgt mit Hilfe eines oxidativen Mikrowellenaufschlusses, bei dem neben einem weitgehenden Aufschluss aller organischen Verbindungen N vollständig zu Nitrat oxidiert wird. Neben diesem Aufschlussverfahren kann auch ein Druckaufschluss genutzt werden.

Neben P ist N ein weiterer wichtiger Steuerfaktor der Primärproduktion. Da jedoch N gerade zur Zeit des Phytoplanktonmonitorings (Frühjahr, Sommer) weitgehend in gelösten organischen Verbindungen und der Biomasse gebunden und deshalb nur geringe pflanzenverfügbare DIN-Konzentrationen zu messen sind, wird TN als Maß der N-Versorgung des Gewässers herangezogen.

### Material:

Mikrowelle oder Trockenschrank  
Mensur und Pipetten (Pipettierhilfe benutzen)  
Teflon- oder PFA-Aufschlussgefäße  
50 ml und 100 ml Weithalsmaßkolben mit Schliffstopfen  
20 ml Vials  
Cadmium-Reduktorsäule oder CFA<sup>1</sup>

### Mikrowellenaufschluss, Nitratbestimmung an der CFA<sup>1</sup>:

- Teflonaufschlussgefäße mit 10 ml (ggf. verdünnter) Wasserprobe füllen.
- Proben mit hohen TN-Konzentrationen ( $>200 \mu\text{M}$ ) mit entionisiertem Wasser etwas verdünnen, damit die Probe vollständig aufgeschlossen wird und die Neutralisation gelingt: z. B. 1 Teil Probe und 3 Teilen Wasser (Verdünnungsfaktor 4).
- 1 ml Persulfatlösung zugeben,
- Aufschlussgefäß mit Dichtungseinsatz und Deckel fest verschließen,
- Aufschluss in Mikrowelle 2 x 20 min bei Programm 7 (vor Benutzung Einführung erbitten).
- Nach Aufschluss mindestens 5 min vor Öffnen und Entnahme warten (Achtung hoher Druck!), bei bereits warmen Gefäßen länger warten.
- Inhalt in einen 50 ml Maßkolben überführen, Aufschlussgefäß mit 2-3 ml entionisiertem Wasser spülen, hinzufügen und auf Raumtemperatur abkühlen lassen,
- Neutralisation der Probe:
  1. Zugabe von 1 ml 0,9 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Ansäuerung des leicht basischen Aufschlusses auf pH  $<8.2$ ),
  2. einige Tropfen 0,05% Phenolphthalein-Indikator zugeben (keine Farbreaktion),
  3. mit 0,12 N NaOH (ca. 3 ml) bis zur ersten blassrosa Farbe titrieren bei pH 10,
  4. Neutralisation mit 1 ml 5 M  $\text{NH}_4\text{Cl}$
- auf 50 ml mit Reinstwasser auffüllen.
- 20 ml abfüllen und Probe ggf. einfrieren oder  $<24$  h im Kühlschrank aufbewahren.

<sup>1</sup> Continuous Flow Analysis

Mikrowellenaufschluss, manuelle Nitratbestimmung (Reduktionssäule):

- Grund der Änderungen: **größeres Probenvolumen von 100 ml** erforderlich
- Proben mit hohen TN-Konzentrationen (>150 µM) mit entionisiertem Wasser etwas verdünnen, damit die Probe vollständig aufgeschlossen wird und die Neutralisation gelingt: z. B. 1 Teil Probe und 4 Teile Wasser (Verdünnungsfaktor 5).
- 10 ml Probe in Mikrowellenaufschlussgefäße abfüllen,
- 1 ml Persulfatlösung zugeben,
- Aufschlussgefäß mit Dichtungseinsatz und Deckel fest verschließen,
- Aufschluss in Mikrowelle LAVIS 1000 2 x 20 min bei Programm 7 (vor Benutzung Einführung erbitten).
- Nach Aufschluss mindestens 5 min vor Öffnen und Entnahme warten (Achtung hoher Druck!), bei bereits warmen Gefäßen länger warten.
- Inhalt in einen 100 ml Maßkolben überführen, Aufschlussgefäß mit 2-3 ml entionisiertem Wasser spülen, hinzufügen und auf Raumtemperatur abkühlen lassen,
- Neutralisation der Probe:
  5. Zugabe von 1 ml 0,9 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Ansäuerung des leicht basischen Aufschlusses auf pH <8.2),
  6. einige Tropfen 0,05% Phenolphthalein-Indikator zugeben (keine Farbreaktion),
  7. mit 0,12 N NaOH (ca. 3 ml) bis zur ersten blassrosa Farbe titrieren bei pH 10,
  8. Neutralisation mit 1 ml 5 M NH<sub>4</sub>Cl
- auf 50 ml mit Reinstwasser auffüllen.
- Auf 100 ml auffüllen.
- Bei hoher Probenrührung oder Eigenfärbung Trübungsblindwert messen.
- Nitrat bestimmen (Probe unbedingt in den mittleren Messbereich um 5 µM verdünnen, weil sonst die Cd-Reduktorsäule schnell erschöpft wird).

Berechnung für CFA<sup>1</sup>:

$$TN (\mu\text{mol l}^{-1}) = c_{NO_3} \cdot V_1$$

$c_{NO_3}$  = Konzentration des Nitrats im Aufschluss ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ), Umrechnung aus Extinktion nicht nötig!

$V_1$  = Vorverdünnung der Probe vor dem Aufschluss

Berechnung für manuelle Nitratbestimmung:

$$TN (\mu\text{mol l}^{-1}) = F_{NO_3} \cdot (E_{Probe} - E_{Trübung} - E_{RBW}) \cdot \frac{10}{St_{10}} \cdot V_1 \cdot V_2$$

$F_{NO_3}$  = Faktor, Anstieg der Kalibriergeraden für Nitrit

$E_{Probe}$  = Extinktion der Probe + Reagenzien bei 543 nm, 5 cm

$E_{Trübung}$  = Extinktion der Probe ohne Reagenzien bei 543 nm, 5 cm bei hoher Trübung oder Eigenfärbung

$E_{RBW}$  = Reagenzienblindwert

10 = Soll-Konzentration ( $\mu\text{M}$ ) des Säulenstandards (Umsetzungseffizienz des Cadmiumreduktors)

$St_{10}$  = gemessene Konzentration des Säulenstandards ( $\mu\text{M}$ )

$V_1$  = Vorverdünnung der Probe vor dem Aufschluss

$V_2$  = Verdünnung der Probe nach der Reduktion zu Nitrit bzw. vor der photometrischen Messung

Küvettentests für hoch belastete Proben (Aquakultur):

- LATON TN<sub>b</sub> Küvettentest von Hach-Lange (LCK 138)
- Proben so mit entionisiertem Wasser verdünnen, dass Konzentration im angegebenen Messbereich von 1-16 mg N l<sup>-1</sup> (71-1143 µM) liegt.

Vorschriften:

DIN 38409-H27  
Hach-Lange LCK138

Qualitätssicherung:

- Täglich (mindestens) einmal eine Leerprobe (Blindwert) aufschließen und messen.
- Täglich (mindestens) einmal einen Referenzwert (100 µM Auswahl siehe unten) aufschließen und messen.
- Sollwert-Zielkarte anlegen. Zulässige Toleranz  $\pm 15\%^2$  prüfen. Bei 100 µM Sollwert muss die Konzentration der Referenz zwischen 8,5 und 11,5 µmol l<sup>-1</sup> liegen.
- Bei Abweichungen
  1. neuer Aufschluss derselben Referenz,
  2. neue Referenz herstellen, aufschließen und messen,
  3. Reagenzien für die Nitritmessung prüfen (10 µM Nitrit-Referenz),
  4. Kalibrierung prüfen und ggf. erneuern.
- Blindwert-Zielkarte anlegen. TN in der Leerprobe muss  $< 3 \mu\text{mol l}^{-1}$  sein<sup>3</sup>. Nicht für Küvettentest durchführen. Bei Abweichungen
  1. neues entionisiertes Wasser verwenden,
  2. Reagenzien prüfen.
- Spannweiten-Zielkarte anlesen: Jede 5 Probe als Duplikat messen.
- Bestimmungsgrenze (BG) aus 10 Leerwerten (incl. Aufschlussprozedur) ermitteln.

Chemikalien:

- basische Persulfatlösung: 25 g Kaliumperoxidisulfat (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> stickstoffarm), 15 g Borsäure und 7,5 g NOH unter Rühren in einem 500 ml Becherglas mit ca. 400 ml unter Rühren lösen. In einem Maßkolben überführt auf 500 ml auffüllen.
- 0,12 N NaOH aus 4,8 g NaOH in 1 l ansetzen, aufkochen.
- 0,9 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aus 6,25 ml konz. Schwefelsäure herstellen. Dazu ca. 150 ml entionisiertes Wasser in 250 ml Maßkolben füllen, Säure hinzugeben (im Waschbecken, wird heiß), dann mit entionisiertem Wasser auffüllen.
- 5M NH<sub>4</sub>Cl aus 26,5 g NH<sub>4</sub>Cl herstellen, die in 100 ml entionisiertem Wasser gelöst werden.
- Referenzen:
  - 100 µM NH<sub>4</sub>Cl
  - 100 µM NaNO<sub>3</sub>
  - 100 µM Glycin

<sup>2</sup> Zielwerte vom LUNG MV übernommen.

<sup>3</sup> Beste BG bis 2019.