

Gesamtstickstoffgehalt in einer Wasserprobe (Mikrowellenaufschlussverfahren)

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
Teflonaufschlussgefäß
Photometer
Küvetten (OG) 50mm, 10mm
Erlenmeyerkolben, graduierte Reagenzgläser
Mensur oder Saugkolben-Messpipetten (Fortuna)
Oxidationsmittel OxiSolv (Merck)

Für Nitratbestimmung an der CFA¹:

- Probe mit entionisiertem Wasser verdünnen, so dass die vermutliche Konzentration ca. $20 \mu\text{mol l}^{-1}$ N beträgt (für Bodden 1 Teil Probe + 4 Teile Wasser, im Winter 9 Teile).
- Teflonaufschlussgefäß mit 10 ml verdünnter Wasserprobe füllen,
- 1 Spatellöffel (g) Oxidationsmittel zugeben,
- Aufschlussgefäß mit Dichtungseinsatz und Deckel fest verschließen,
- Aufschluss in Mikrowelle bei 450 W für 50 s
- Nach Aufschluss mindestens 5 min vor Öffnen und Entnahme warten (Achtung hoher Druck!), bei bereits warmen Gefäßen länger warten.
- Inhalt in ein graduiertes Reagenzglas überführen, Aufschlussgefäß mit ca. 1 ml entionisiertem Wasser spülen, vereinigen und auf Raumtemperatur abkühlen lassen,
- Neutralisation der Probe:
 1. Zugabe von 1 ml 0,9 N H_2SO_4
 2. einige Tropfen 0,05% Phenolphthalein-Indikator
 3. Neutralisation mit 0,12 N NaOH (ca. 3 ml) bis zur ersten blassrosa Farbe
- 1 ml 5 M NH_4Cl zusetzen,
- auf 20 ml auffüllen.
- Probe ggf. einfrieren oder <24 h im Kühlschrank aufbewahren.

¹ Continuous Flow Analysis

Für manuelle Nitratbestimmung (Reduktionssäule):

- Grund der Änderungen: **größeres Probenvolumen von 100 ml** erforderlich
- Probe mit entionisiertem Wasser etwas verdünnen, damit die Probe vollständig aufgeschlossen wird und die Neutralisation gelingt: 1 Teil Probe und 1 Teil Wasser.
- Teflonaufschlussgefäß mit 10 ml verdünnter Wasserprobe füllen,
- 1 Spatellöffel (g) Oxidationsmittel zugeben,
- Aufschlussgefäß mit Dichtungseinsatz und Deckel fest verschließen,
- Aufschluss in Mikrowelle bei 450 W für 50 s.
- Nach Aufschluss mindestens 5 min vor Öffnen und Entnahme warten (Achtung hoher Druck!), bei bereits warmen Gefäßen länger warten.
- Inhalt in ein Reagenzglas überführen, Teflongefäß mit ca. 1 ml entionisiertem Wasser spülen, vereinigen und auf Raumtemperatur abkühlen lassen,
- Neutralisation der Probe:
 4. Zugabe von 1 ml 0,9 N H₂SO₄
 5. einige Tropfen 0,05% Phenolphthalein-Indikator
 6. Neutralisation mit 0,12 N NaOH (ca. 3 ml) bis zur ersten blassrosa Farbe
- 1 ml 5 M NH₄Cl zusetzen,
- in 100 ml Maßkolben überführen, mit einigen ml entionisiertem Wasser nachspülen,
- auf 100 ml auffüllen.
- Nitrat bestimmen.

Berechnung für CFA:

$$\text{TN}(\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}) = 2 \cdot F_1 \cdot \text{NO}_3^-(\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1})$$

F₁ = erste Verdünnung (z. B. für 1+4 ist Faktor 5)

2 = Volumenkorrektur von 10 auf 20 ml (Spülen und Neutralisieren)

Berechnung für manuelle Nitratmethode:

$$\text{TN}(\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}) = 10 \cdot F_1 \cdot \text{NO}_3^-(\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1})$$

F₁ = erste Verdünnung (z. B. für 1+1 ist Faktor 2)

10 = Volumenkorrektur von 10 auf 100 ml (notwendige Probenmenge für Säule)

Durchführung für hoch belastete Proben (Aquakultur):

- LATON TN_b Küvettentest von Hach-Lange (LCK 138)
- Proben so mit entionisiertem Wasser verdünnen, dass Konzentration im angegebenen Messbereich von 1-16 mg N l⁻¹ (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. Erste Verdünnung 1+4 und dann auf 20 ml auffüllen (Gesamtverdünnungsfaktor 10). Für LATON-Küvettentest Referenz nicht verdünnen.
- Sollwert-Zielkarte anlegen. Zulässige Toleranz $\pm 15\%^2$ prüfen. Bei 10 μM Zielwert muss die Konzentration der Referenz zwischen 8,5 und 11,5 $\mu\text{mol l}^{-1}$ 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 $< 7,5 \mu\text{mol l}^{-1}$ sein¹. Nicht für Küvettentest durchführen. Bei Abweichungen
 1. neues entionisiertes Wasser verwenden,
 2. Reagenzien prüfen.

Chemikalien:

- 0,12 N NaOH aus 4,8 g NaOH in 1 l ansetzen, aufkochen.
- 0,9 N H_2SO_4 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_4Cl aus 26,5 g NH_4Cl herstellen, die in 100 ml entionisiertem Wasser gelöst werden.
- Referenzen:
 - 100 μM NH_4Cl
 - 100 μM NaNO_3
 - 100 μM EDTA

² Zielwerte vom LUNG MV übernommen.