

Bestimmung von Gesamtstickstoff in Wasser

1 Arbeitsgrundlagen

- DIN EN ISO 5667-3 (A21), Anleitung zur Konservierung und Handhabung von Wasserproben, 2004-05
- DIN 38402 - A30, Vorbehandlung, Homogenisierung und Teilung heterogener Wasserproben, 1998-07
- DIN 38402 - A51, Kalibrierung von Analysenverfahren, Auswertung von Analysenergebnissen und lineare Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenngrößen, 1986-05
- DIN ISO 8466-2 (A44), Kalibrierung und Auswertung analytischer Verfahren und Beurteilung von Verfahrenskennwerten - Teil 2: Kalibrierstrategie für nichtlineare Kalibrierfunktionen zweiten Grades, 2004-06
- DIN EN 12260 (H34), Bestimmung von Stickstoff - Bestimmung von gebundenem Stickstoff (TN_b) nach Oxidation zu Stickstoffoxiden, 2003-12
- DIN EN ISO 11905-1 (H36), Bestimmung von Stickstoff - Teil 1: Bestimmung von Stickstoff nach oxidativem Aufschluss mit Peroxodisulfat, 1998-08
- DIN 38405-9 (D9), Photometrische Bestimmung von Nitrat, 2011-09
- DIN EN ISO 13395 (D28), Bestimmung von Nitritstickstoff, Nitratstickstoff und der Summe der beiden mit der Fließanalytik (CFA und FIA) und spektrometrischer Detektion, 1996-12
- DIN EN ISO 10304-1 (D20), Bestimmung von gelösten Anionen mittels Flüssigkeits-Ionenchromatographie, Bestimmung von Bromid, Chlorid, Fluorid, Nitrat, Nitrit, Phosphat und Sulfat, 2009-07
- DIN 32645, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen, 2008-11
- LAWA-AQS-Merkblatt A-2, Kontrollkarten, September 2004
- LAWA-AQS-Merkblatt A-6/1, Qualitätsziele für das Führen von Mittelwertkontrollkarten der anorganischen Parameter und der Summenparameter in Wasser, September 2004
- LAWA-AQS-Merkblatt A-7, Kalibrierung, Auswertung, Ergebnisangabe, Januar 2001
- ISO/TS 13530, Water quality – Guidance on analytical quality control for chemical and physicochemical water analysis, 2009

Weitere Literatur siehe Abschnitt 9

2 Zweck

Die Bestimmung von Gesamtstickstoff in Wasser dient z.B. zur Analyse des Nährstoffhaushalts in aquatischen Ökosystemen oder zur Kontrolle von Grenzwerten. Das Merkblatt enthält Hinweise für die Bestimmung von Gesamtstickstoff in Wässern, wie z.B. Binnengewässer, Meerwasser, Niederschlagswasser, Grundwasser, Rohwasser, Trinkwasser und Abwasser und legt Maßnahmen zur analytischen Qualitätssicherung fest. Die Bestimmung von Gesamtstickstoff kann nach instrumentellen oder nasschemischen Verfahren entsprechend den o.g. Normen durchgeführt werden. Dieses Merkblatt bezieht sich auf beide Verfahren.

Es ist darauf hinzuweisen, dass in Abhängigkeit von Probenmatrix und verwendeten Kalibrierstandards das instrumentelle und das nasschemische Verfahren zu unterschiedlichen Analysenergebnissen führen können.

3 Probenahme

Die Probenahme ist entsprechend den in Abschnitt 9 [1] genannten Probenahmenormen durchzuführen. Je nach Aufgabenstellung sind Stichproben oder zeit- bzw. durchflussproportionale Mischproben zu entnehmen. Die Probenteilung vor Ort ist erforderlichenfalls gemäß DIN 38402 - A30 durchzuführen.

Sofern nur der gelöste Stickstoff bestimmt werden soll, ist die Probe unmittelbar nach der Probenahme über ein 0,45 µm - Membranfilter zu filtrieren. Als Filtermaterial eignet sich Polycarbonat, es können aber auch andere blindwertfreie Materialien angewendet werden.

Die Proben sind in Glas- oder geeigneten Kunststoffflaschen (z.B. PE oder PP) abzufüllen. Die Probenahmebehälter sind vor ihrem Einsatz sorgfältig zu reinigen. Im Allgemeinen ist die Reinigung in einer Laborspülmaschine bei gründlicher Nachspülung mit entionisiertem Wasser ausreichend.

Die Proben sind gekühlt zu transportieren.

4 Probenkonservierung

Die Untersuchung der Probe sollte möglichst umgehend erfolgen, da sonst bei mikrobiologisch aktiven Proben Minderbefunde zu erwarten sind.

Bei Aufbewahrung im Kühlschrank (2 - 5 °C) ist eine Untersuchung bis 48 h nach der Probenahme möglich. Durch Ansäuern der Probe mit Schwefelsäure oder Salzsäure auf einen pH-Wert < 2 und Aufbewahrung bei 2 - 5 °C ist die Probe bis zu 8 Tage stabil.

Anmerkung 1: *Bei der Verwendung von Schwefelsäure kann es zur Sulfatausfällung am Katalysator kommen (DIN EN 12260 (H34)).*

Längere Aufbewahrungszeiten von bis zu einem Monat, wie in DIN EN ISO 5667-3 (A21) erwähnt, sind durch Stabilitätsuntersuchungen zu validieren.

Sollte eine Konservierung durch Tiefrieren nicht zu umgehen sein, ist die Probe nach dem Auftauen entsprechend Abschnitt 5 zu homogenisieren, da mit irreversiblen und inhomogen verteilten Ausfällungen (z.B. Proteinausfällungen) zu rechnen ist. Entsprechend DIN EN ISO 5667-3 (A21) sollte eine Konservierungszeit von einem Monat nicht überschritten werden.

Bei Bestimmung des Gesamtstickstoffs nach dem nasschemischen Verfahren (Peroxodisulfatmethode) kann die aufgeschlossene Probe im geschlossenen Aufschlussgefäß erforderlichenfalls mehrere Wochen aufbewahrt werden.

5 Probenvorbehandlung

Vor der Entnahme eines Aliquots sind gekühlte Proben auf Raumtemperatur zu bringen. Inhomogene Proben müssen gemäß DIN 38402 - A30 homogenisiert werden.

6 Durchführung

Bei Abwasser- und heterogenen Proben sollten zwei voneinander unabhängige Bestimmungen über das Gesamtverfahren durchgeführt werden. Die gemessenen Werte sollten eine relative Spannweite von 10% nicht überschreiten, ansonsten sind weitere Bestimmungen durchzuführen.

6.1 Instrumentelle Methode

In der nach Abschnitt 5 vorbehandelten Probe erfolgt die TN_b -Bestimmung gemäß DIN EN 12260 (H34). Bei Untersuchung heterogener Proben mit der instrumentellen Methode ist darauf zu achten, dass die im Probenwechsler befindlichen Proben bei Entnahme des Aliquots im homogenen Zustand gehalten werden, z.B. durch Einsatz eines Magnet- oder Paddelrührers.

Die in der Norm DIN EN 12260 (H34) genannten Maßnahmen zur Systemkontrolle sind vor Beginn der Analysen durchzuführen.

Bei Durchführung einer Bestimmung sind mehrere Einzelmessungen aus einem Probenbehälter vorzunehmen. Die Anzahl der Einzelmessungen richtet sich nach der jeweiligen Probenbeschaffenheit (Homogenität). Die relative Standardabweichung des Mittelwerts sollte dabei nicht mehr als 10 % betragen. Erhöhte Gehalte an Detergentien, Ölen und Fetten können infolge Veränderung der Oberflächenspannung zu Fehlmessungen führen. Dieser Fehler muss durch weitere Messungen, gegebenenfalls in verdünnten Proben, minimiert werden.

Memoryeffekte sind durch Optimierung der Zwischenspülschritte weitgehend auszuschließen.

6.2 Peroxodisulfatmethode

Die nach Punkt 5 vorbehandelte Probe wird dem Peroxodisulfat-Aufschluß nach DIN EN ISO 11905-1 (H36) unterzogen. Dabei werden die in der Probe enthaltenen Stickstoffverbindungen zu Nitrat oxidiert.

Dieses Verfahren eignet sich gut für relativ gering belastete Wasserproben. Für organisch hoch belastete Proben ist dieses Verfahren nur bedingt geeignet, da die Gefahr besteht, dass der Aufschluss unvollständig ist und zu niedrige Werte erhalten werden. Die Vollständigkeit des Aufschlusses kann durch ein UV-Spektrum im Bereich 210 nm bis 275 nm überprüft werden. Übersteigt das spektrale Absorptionsmaß bei 275 nm den Wert bei 210 nm um mehr als 5 %, kann von einem unvollständigem Aufschluss ausgegangen werden. Für derartige Proben ist die instrumentelle Methode besser geeignet.

Die sich anschließende Nitratbestimmung kann nach mehreren Verfahren durchgeführt werden. Die Norm beschreibt die Bestimmung als Nitrit nach Reduktion des Nitrats am Cadmiumreduktor im Continuous-Flow-Verfahren. Neben den Continuous-Flow-Verfahren sind auch Fließinjektionsverfahren anwendbar (DIN EN ISO 13395 (D28)).

Weitere Möglichkeiten sind die Nitratbestimmung mit der Ionenchromatographie (DIN EN ISO 10304-1 (D20)), die photometrische Direktbestimmung bei 210 nm (siehe Abschnitt 6.2.2.) und die photometrische Bestimmung nach DIN 38405-9.

Anmerkung 2: *Die photometrische Direktbestimmung bietet bei einer Messung bei mehreren Wellenlängen den Vorteil, dass die Vollständigkeit des Aufschlusses methodenimmanent überprüft werden kann (siehe auch Abschnitt 6.2.2).*

6.2.1 Aufschluss

Mit dem in der Norm DIN EN ISO 11905-1 (H36) beschriebenen Peroxodisulfat-Aufschluss (Probenvolumen 50 ml) lassen sich Gesamtstickstoffkonzentrationen bis zu 5 mg/l bei einem TOC von maximal 40 mg/l bzw. CSB von maximal 120 mg/l erfassen. Bei höher belasteten Proben, insbesondere bei hohen Konzentrationen an Ammonium oder organischen Stickstoffverbindungen reicht die Oxidationskapazität der Oxidationslösung nicht aus. Diese Proben müssen vor dem Aufschluss verdünnt werden.

Anmerkung 3: *Es empfiehlt sich, bei unbekannten Proben (insbesondere Abwasser- und Sickerwasserproben) vor dem Aufschluss einen Ammonium-Schnelltest durchzuführen. Aus dem Ergebnis kann die notwendige Verdünnung abgeschätzt werden.*

Vorgehen bei Ammoniumgehalten > 20 mg/l:

Bei Ammoniumgehalten > 20 mg/l sind mindestens zwei unterschiedliche Verdünnungen anzusetzen, dabei sind die o.g. Randbedingungen bezüglich TOC bzw. CSB einzuhalten. Sollte sich bei der höheren Verdünnung ein größerer Stickstoffgehalt (Betrag der Abweichung vom Mittelwert > 10 %) ergeben, so ist der Aufschluss mit noch größeren Verdünnungen zu wiederholen.

6.2.2 Nitratbestimmung

Bei der Nitrat-Bestimmung mit Fließanalysenverfahren ist darauf zu achten, dass die Matrix von Spül- und Verdünnungswasser den Aufschlusslösungen angepasst ist. Als Spüllösung bzw. Verdünnungslösung hat sich die aufgeschlossene, mit entionisiertem Wasser 1:10 verdünnte Oxidationslösung bewährt.

Bei einer Vielzahl von Matrices hat sich die photometrische Direktbestimmung bei 210 nm sehr gut bewährt (entsprechend DIN EN ISO 11905-1 (H36)- Anhang C4). Dabei muss jedoch geprüft werden, ob auch eventuell nicht zerstörte organische Verbindungen bei 210 nm absorbieren. Zu diesem Zweck wird eine Kontrollmessung bei 275 nm durchgeführt. Wenn der Messwert bei 275 nm mehr als 5 % desjenigen bei 210 nm beträgt, ist die Methode unbrauchbar [2].

In einem solchen Fall ist aber auch jede andere Art der Nitratbestimmung zweifelhaft.

7 Angabe der Ergebnisse

Die Angabe der Ergebnisse erfolgt mit maximal zwei signifikanten Stellen in mg/l bezogen auf Stickstoff, z.B.:

Massenkonzentration Gesamtstickstoff $\beta(\text{N}) = 0,73 \text{ mg/l}$ oder

TN_b 2,3 mg/l

Im Falle von Mehrfachbestimmungen ist der Mittelwert anzugeben.

8 Maßnahmen zur Qualitätssicherung**8.1 Interne Qualitätskontrolle**

Laborintern sind die nachfolgend zusammengestellten Maßnahmen zur analytischen Qualitätskontrolle durchzuführen (siehe auch Tabelle 1).

8.1.1 Instrumentelle Methode**8.1.1.1 Überprüfung der Kalibrierfunktion und der Bestimmungsgrenze**

Matrix: zum Beispiel Mischstandardlösung nach DIN EN 12260 (H34) bestehend aus Ammoniumsulfat und Kaliumnitrat

Häufigkeit: im Rahmen der Einarbeitungsphase, bei wesentlichen Änderungen der Analysenbedingungen, mindestens 1-mal jährlich

Qualitätsanforderungen:

Bestimmungsgrenze < 1 mg/l oder entsprechend den Anforderungen aus Messprogrammen

Bemerkung: Auswertung nach LAWA-AQS-Merkblatt A7 oder ISO/TS 13530

8.1.1.2 Blindwertkontrolle

Matrix: entionisiertes Wasser

Häufigkeit: mindestens einmal pro Serie

Qualitätsanforderung: Informationswert $< 10 \%$ des unteren Kalibrierstandards (Peakhöhe/-fläche)

Zeigen sich im Routinebetrieb keine signifikanten Blindwerte, so kann auf die Führung einer Kontrollkarte verzichtet werden.

8.1.1.3 Mittelwertkontrollkarte oder Mittelwert-Zielkarte

Matrix: vom Kalibrierstandard unabhängige Lösung, zum Beispiel Nicotinsäure oder Mischstandard aus Ammoniumsulfat und Kaliumnitrat

Häufigkeit: arbeitstäglich

Qualitätsanforderung: Kontrollgrenze $\pm 12 \%$ des Sollwertes (entsprechend LAWA-AQS-Merkblatt A-6/1)

Bemerkung: Die angegebene Kontrollgrenze ergibt sich aus dem Dreifachen des nach LAWA-AQS-Merkblatt A-6/1 anzustrebenden Variationskoeffizienten von $v = 4 \%$.

8.1.1.4 Spannweitenkontrollkarte oder Spannweiten-Zielkarte

Matrix: reale Probe

Häufigkeit: arbeitstäglich

Qualitätsanforderung: rel. Spannweite $< 10 \%$ oder absolute Spannweite $<$ Vertrauensbereich an der Bestimmungsgrenze

8.1.2 Peroxodisulfatmethode

Die nachfolgend beschriebenen Maßnahmen gelten grundsätzlich für das Gesamtverfahren, d.h. für Aufschluss und Nitratbestimmung.

8.1.2.1 Überprüfung der Kalibrierfunktion und der Bestimmungsgrenze

Matrix: zum Beispiel Glycin-Standardlösungen im niedrigsten anzustrebenden Messbereich, z.B. zwischen $\beta(N) = 0,2 \text{ mg/l}$ und $\beta(N) = 2,0 \text{ mg/l}$

Häufigkeit: im Rahmen der Einarbeitungsphase, bei wesentlichen Änderungen der Analysenbedingungen, mindestens 1-mal jährlich

Qualitätsanforderungen:

Bestimmungsgrenze: $< 1 \text{ mg/l}$ oder entsprechend den Anforderungen aus Messprogrammen

Bemerkung: Auswertung nach LAWA-AQS-Merkblatt A7 oder ISO/TS 13530

8.1.2.2 Blindwertkontrolle

Matrix: entionisiertes Wasser

Häufigkeit: mindestens einmal pro Serie

Qualitätsanforderung: Informationswert $\leq 10 \%$ des unteren Kalibrierstandards

8.1.2.3 Mittelwertkontrollkarte oder Mittelwert-Zielkarte

Matrix: vom Kalibrierstandard unabhängige Lösung, z. B. Glycin-Standardlösung mit $\beta(N) = 2 \text{ mg/l}$

Häufigkeit: arbeitstäglich

Qualitätsanforderung: Kontrollgrenze $\pm 12 \%$ des Sollwertes (entsprechend LAWA-AQS-Merkblatt A-6/1)

Bemerkung: Die angegebene Kontrollgrenze ergibt sich aus dem Dreifachen des nach LAWA-AQS-Merkblatt A-6/1 anzustrebenden Variationskoeffizienten von $v = 4 \%$.

8.1.2.4 Spannweitenkontrollkarte oder Spannweiten-Zielkarte

Matrix: reale Probe

Häufigkeit: arbeitstächlich

Qualitätsanforderung: rel. Spannweite $< 10 \%$ oder absolute Spannweite $\leq$ Vertrauensbereich an der Bestimmungsgrenze

8.2 Externe Qualitätskontrolle

An angebotenen Ringversuchen und Vergleichsuntersuchungen ist teilzunehmen. Qualitätsanforderungen hierfür sind von den Veranstaltern festzulegen. Es wird darüber hinaus empfohlen, Vergleichsmessungen mit anderen Laboratorien durchzuführen.

AQK-Maßnahme	Medium	Häufigkeit	Qualitätsanforderungen	Bemerkungen
Überprüfung der Kalibrierfunktion und der Bestimmungsgrenze	<u>Instrumentelle Methode:</u> z.B. Mischstandard aus Ammoniumsulfat und Kaliumnitrat <u>Peroxodisulfatmethode:</u> z.B. Glycinstandard	Einarbeitungsphase, nach wesentlichen Änderungen der Analysenbedingungen, mindestens 1 mal jährlich	Bestimmungsgrenze x_{BG} (N) $\leq$ laborinterne Festlegung und x_{BG} (N) $\leq$ kleinster Kalibrierstandard	- im niedrigsten anzustrebenden Arbeitsbereich empfohlen wird eine Bestimmungsgrenze von x_{BG} (N) ≤ 1 mg/l - sofern die Anzahl der verwendeten Standards 10 beträgt, sie äquidistant verteilt sind und eine Zehnerpotenz abdecken, ist $V_{x0} \leq 3,33\%$ ein hinreichendes Qualitätskriterium - empfohlen wird die Kalibrierung in analytfreier Matrix, welche den Proben entspricht oder ähnlich ist
Blindwertkontrolle	entionisiertes Wasser	mindestens einmal pro Serie	Informationswert $< 10\%$ des unteren Kalibrierstandards	
Mittelwertkontrollkarte oder Mittelwert-Zielkarte	<u>Instrumentelle Methode:</u> z.B. Nicotinsäurestandard <u>Peroxodisulfatmethode:</u> z.B. Glycinstandard ($\beta(N) = 2$ mg/l)	arbeitstäglich	Kontrollgrenze $\pm 12\%$ des Sollwerts	siehe LAWA-AQS-Merkblatt A-2 bzw. A-6/1
Spannweitenkontrollkarte oder Spannweiten-Zielkarte	reale Proben	arbeitstäglich	relative Spannweite $< 10\%$ oder absolute Spannweite $<$ Vertrauensbereich der Bestimmungsgrenze	

Tabelle 1: Maßnahmen zur internen Qualitätskontrolle

9 Literatur

- [1] Normen und LAWA-AQS-Merkblätter
DIN 38402 – A 1, Angabe von Analysenergebnissen, 1987-03
DIN 38402 - A 11, Probenahme von Abwasser, 2009-02
DIN 38402 - A 12, Probenahme aus stehenden Gewässern, 1985-06
DIN 38402 - A 13, Probenahme aus Grundwasserleitern, 1985-12
DIN 38402 - A 14, Probenahme von Roh- und Trinkwasser, 1986-03
DIN 38402 - A 15, Probenahme aus Fließgewässern, 1986-07
DIN 38402 - A 16, Probenahme aus dem Meer, 1987-08
DIN 38402 - A 17, Probenahme von fallenden, nassen Niederschlägen in flüssigem Aggregatzustand, 1988-05
DIN 38402 - A 20, Probenahme aus Tidegewässern, 1987-08
- AQS-Merkblätter für die Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung
Herausgegeben von der Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA)
Erich Schmidt Verlag GmbH & Co., Berlin, Loseblattsammlung seit 1991
- [2] American Public Health Association: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 17th Edition, Washington, 1989

Weiterführende Literaturangaben:

- [3] W. Elling: Gesamtstickstoffbestimmung - ein Methodenvergleich, Gas Wasser Abwasser 1991, 120, 110-121
- [4] K. Grasshoff et al: Methods of Seawater Analysis, 3rd Ed., Verlag Wiley-VCH Weinheim, 1999
- [5] A. Lindemann: Die Bestimmung des Gesamtstickstoffs in gereinigtem kommunalen Abwasser nach einer instrumentellen Methode und der Methode nach oxidativem Druckaufschluß, Diplomarbeit TU Braunschweig, 1991
- [6] F. Nydahl: On the peroxodisulfate oxidation of total nitrogen in waters to nitrate, Water Research 1978, 12, 1123 – 1130
- [7] D. Rinne et al: Beitrag zur Bestimmung des gesamten gebundenen Stickstoffs und Ermittlung des organisch gebundenen Stickstoffs in der Wasseranalytik, Z. Wasser-Abwasser-Forschung 1991, 24, 135 - 147
- [8] C. Ritzenhoff: Bestimmung des gesamten gebundenen Stickstoffs im Wasser mittels Chemolumineszenzdetektion im Vergleich zu naßchemischen Verfahren, Diplomarbeit FH Münster, 1991