

UMWELTFORSCHUNGSPLAN DES
BUNDESMINISTERIUMS FÜR UMWELT,
NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT
- Wasserwirtschaft -

FORSCHUNGSBERICHT 200 22 231

**Verbesserte Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts
in Süßwasser-, Brackwasser- und Seewasserproben -
Validierung der Analyseverfahren**

von :

Dr. Klaus Nagel und Oliver Primm
Institut für Ostseeforschung Warnemünde

IM AUFTRAG
DES UMWELTBUNDESAMTES

Januar 2003

Berichts-Kennblatt

1. Berichtsnummer UBA-FB	2.	3.
4. Titel des Berichts Verbesserte Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts in Süßwasser-, Brackwasser- und Seewasserproben – Validierung von Analyseverfahren		
5. Autor(en), Name(n), Vorname(n) Dr. Nagel , Klaus Pimm , Oliver	8. Abschlußdatum Januar 2003	
6. Durchführende Institution (Name, Anschrift) Institut für Ostseeforschung Warnemünde - Sektion Meereschemie - Seestr. 15 18119 Rostock , Germany	9. Veröffentlichungsdatum Januar 2003	
	10. UFOPLAN-Nr. 200 22 231	
	11. Seitenzahl 91	
	12. Literaturangaben 23	
7. Fördernde Institution (Name, Anschrift) Umweltbundesamt, Postfach 33 00 22, D-14191 Berlin	13. Tabellen und Diagramme 7	
	14. Abbildungen 33	
	15. Zusätzliche Angaben	
16. Kurzfassung Im Rahmen dieses Projekts wurden zwei Methoden zur Bestimmung des (gelösten) Gesamtstickstoffgehalts (TN) in aquatischen Ökosystemen validiert. Die erste Methode basiert auf einem online – UV Aufschluss der stickstoffhaltigen Verbindungen in der Probe und dem anschließenden Nachweis von Nitrat, das das Endprodukt der Aufschlussreaktion ist. Zur Durchführung der Analysen wurde ein Continuous - Flow System benutzt. Die zweite Methode basiert auf der Verbrennung der Probe bei hohen Temperaturen an einem Katalysator (HTC – Methode), bei der stickstoffhaltige Verbindungen zu NO umgesetzt werden. NO wird anschließend mit Hilfe eines Chemolumineszenzdetektors quantifiziert. Für beide Methoden wurden die Validierungsparameter bestimmt. Ein Vergleich beider Methoden zeigt, dass sie vergleichbar sind bezüglich ihrer Anwendbarkeit zur Bestimmung von TN, sich jedoch deutlich im Zeit- und Arbeitsaufwand unterscheiden, der zur Durchführung der Analysen erforderlich ist. Als Bestandteil des Projekts wurde auch ein Ringversuch zur Bestimmung von TN organisiert. 23 Laboratorien aus drei Ländern nahmen daran teil und reichten 29 Datensätze mit Ergebnissen ein, die mit unterschiedlichen Bestimmungsmethoden erzielt wurden. Fast alle Laboratorien erreichten akzeptable Ergebnisse, wobei allerdings die Streuung der Resultate 10% bis 15% des Messwertes beträgt. Da die Streuung zwischen den Laboratorien, die die gleichen Analyseverfahren eingesetzt hatten, in der gleichen Größenordnung lag wie diejenige zwischen den Resultaten, die mit unterschiedlichen Verfahren erzielt wurden, kann keine Methode als besonders geeignet empfohlen werden. Ein generelles Ergebnis dieses Ringversuchs ist jedoch die Empfehlung, möglichst häufig Referenzmaterial zur Absicherung der Konsistenz der Analysen einzusetzen, wobei die Matrix des Referenzmaterials möglichst mit derjenigen der Proben identisch sein soll.		
17. Schlagwörter Gesamtstickstoff , analytische Methode , UV – Aufschluss , HTC – Methode , Ringversuch		
18. Preis	19.	20.

Report Cover Sheet

1. Report No. UBA-FB	2.	3.
4. Report Title Improved determination of total nitrogen in freshwater, brackish water and seawater - validation of analytical methods		
5. Autor(s), Family Name(s), First Name(s) Dr. Nagel , Klaus Primm , Oliver	8. Report Date January 2003	
6. Performing Organisation (Name, Address) Institut für Ostseeforschung Warnemünde - Sektion Meereschemie - Seestr. 15 18119 Rostock , Germany	9. Publication Date January 2003	
	10. UFOPLAN-Ref. No. 200 22 231	
	11. No. of Pages 91	
	12. No. of Reference 23	
7. Sponsoring Agency (Name, Address) Umweltbundesamt, Postfach 33 00 22, D-14191 Berlin	13. No. of Tables, Diagrams 7	
	14. No. of Figures 33	
15. Supplementary Notes		
16. Abstract Within this project two methods for the determination of (dissolved) Total Nitrogen (TN) in aquatic environments are validated. The first method based on an online – UV digestion of the nitrogen containing compounds in the sample and the subsequent determination of nitrate, which was the end product of this digestion step. The analysis was performed using a continuous flow system. The second method based on the catalytic high temperature combustion of the sample (HTC – method), which converts nitrogen containing compounds into NO. NO is quantified with a chemoluminescent detection system. For both methods standard validation parameters are determined. A comparison of both methods shows that they are comparable with respect to their applicability to determine TN, but differ significantly in time and effort to perform good analysis. As a part of this project an intercalibration exercise for the determination of TN was organized. 23 laboratories from three countries participated and reported 29 datasets of results obtained with different methods. Almost all laboratories reported acceptable results, although the results scattered in a range of 10% to 15% of the assigned value. As the scatter between laboratories applying the same method was in the same order of magnitude as the scatter between results obtained with different methods, no method can be recommended as the 'method of choice'. However, a general outcome of this intercalibration exercise was the recommendation to use appropriate reference material very frequently to ensure the consistency of the analysis. Reference material is regarded as appropriate if the matrix of the reference is almost identical with that of the sample.		
17. Keywords total nitrogen , analytical method, UV – digestion , HTC – method , intercalibration		
18. Price	19.	20.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
2	Stickstoffverbindungen in aquatischen Ökosystemen	3
3	Methoden zur Stickstoffbestimmung	5
4	Darstellung der im Rahmen dieser Untersuchung verwendeten Methoden	9
4.1	Kriterien zur Auswahl von zwei zu validierenden Analysemethoden	9
4.2	Kurzbeschreibung des eingesetzten online – UV Aufschlusses	11
4.3	Kurzbeschreibung der eingesetzten HTC - Methode	14
4.4	Prinzipielles Schema zur Durchführung von Analysenläufen	17
4.5	Verfahren zur Validierung der eingesetzten Methoden	18
5	Validierung der untersuchten Methoden zur TN – Bestimmung	19
5.1	Vorbemerkungen	19
5.2	Validierung der HTC – Methode	19
5.2.1	Untersuchung verschiedener Randbedingungen der Methode	19
5.2.2	Bestimmung der Validierungsparameter der HTC – Methode	26
5.3	Validierung der online – UV Methode	33
5.3.1	Untersuchung verschiedener Randbedingungen der Methode	33
5.3.2	Bestimmung der Validierungsparameter für das online - UV Verfahren	34
5.4	Vergleich der HTC – Methode mit dem online – UV Verfahren	39
6	Einsatz der untersuchten Verfahren bei Vergleichsmessungen	41
7	Ausblick	49
8	Literaturverzeichnis	50
9	Anhänge	53

Die Auswertung des Ringversuchs, der Bestandteil des Projekts ist,
erfolgt in einem gesonderten Report, der als Anhang A4 beigefügt ist !

1 Einleitung

Stickstoffverbindungen spielen bei der Bewertung aquatischer Ökosysteme eine wichtige Rolle, da sie einige Teilschritte im biogeochemischen Stoffkreislauf limitieren oder stimulieren können.

Insbesondere anthropogene Einträge stickstoffhaltiger (oder phosphorhaltiger) Verbindungen können aquatische Systeme nachhaltig beeinflussen ('Eutrophierung').

Um im Rahmen nationaler und internationaler Überwachungsprogramme eine Grundlage zur Erfassung und Bewertung des Zustandes aquatischer Ökosysteme zu haben, ist die Verfügbarkeit gesicherter und vergleichbarer Messdaten eine wesentliche Voraussetzung, insbesondere dann, wenn die Daten durch eine Zusammenarbeit verschiedener Einrichtungen mit unterschiedlichen Messmethoden erhoben werden.

Im Rahmen dieses Projekts sollten wenigstens 2 unterschiedliche Methoden zur Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts in Süßwasser-, Brackwasser und Seewasser charakterisiert und validiert werden. Die Methoden sollten außerdem im Rahmen eines Ringversuchs getestet werden. Da zum Zeitpunkt der Planung des Projekts kein natürliches Referenzmaterial zur Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts zur Verfügung stand, sollten auch Möglichkeiten untersucht werden, geeignetes natürliches Referenzmaterial bereitzustellen.

2 Stickstoffverbindungen in aquatischen Ökosystemen

Der in aquatischen Systemen vorkommende Gesamtstickstoff (TN) kann alle stickstoffhaltigen Verbindungen aus der belebten und unbelebten Umwelt umfassen und ist hinsichtlich der vorkommenden Einzelverbindungen nicht einzugrenzen. TN kann in zwei Klassen unterteilt werden, den partikulär gebundenen Stickstoff (PN) und die gelösten Stickstoffverbindungen (DN) (Abb. 1). Die Unterscheidung zwischen 'partikulär' und 'gelöst' ist insofern willkürlich, als alle Verbindungen, die durch einen Filtrationsschritt auf einem Filter abgeschieden werden können, als 'partikulär' bezeichnet werden, die im Filtrat befindlichen als 'gelöst'. Abhängig von der jeweiligen Aufgabenstellung können Filter aus verschiedenen Materialien eingesetzt werden, die zu unterschiedlichen Anteilen in der partikulären bzw. gelösten Fraktion führen können.

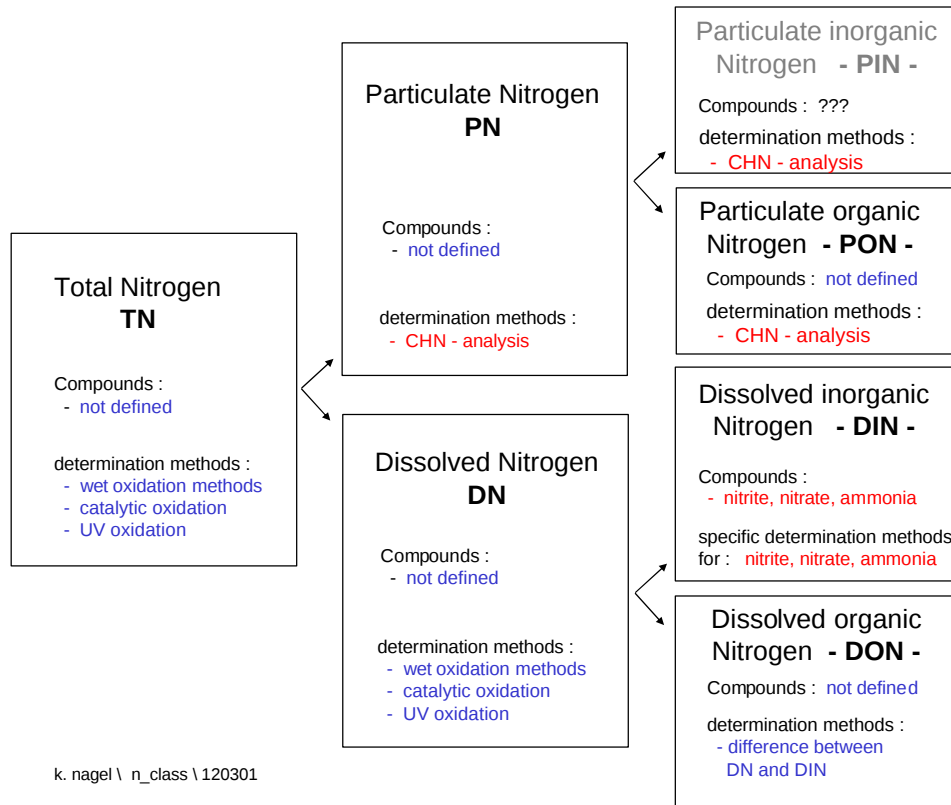


Abb. 1 : Klassifizierung der in aquatischen Ökosystemen vorkommenden Stickstoffverbindungen
Neben den einzelnen Stickstoffklassen sind die in der entsprechenden Klasse zusammengefassten Stickstoffverbindungen und die wichtigsten Analyseverfahren zur Erfassung dieser Verbindungen angegeben
(not defined : nicht näher zu spezifizierende Vielzahl unterschiedlicher Verbindungen)

Sowohl die partikuläre als auch die gelöste Fraktion lassen sich weiter unterteilen in die partikulären anorganischen und organischen Stickstoffverbindungen (PIN bzw. PON) und die gelösten anorganischen und organischen Stickstoffverbindungen (DIN bzw. DON). Da in aquatischen Systemen partikuläre anorganische Stickstoffverbindungen in der Regel sehr selten vorkommen, werden in den meisten Untersuchungen PON und PN synonym verwendet. Partikuläre Stickstoffverbindungen bestehen praktisch ausschließlich aus lebenden oder toten Zellen aquatischer Organismen bzw. deren Ausscheidungs- oder Abbauprodukten.

Das mengenmäßige Verhältnis der einzelnen Stickstoffverbindungen kann sowohl lokal als auch saisonal große Unterschiede aufweisen. Dabei sind insbesondere DIN als 'Nährstoff' der Algen und 'PON' deutlichen saisonale Schwankungen unterworfen. In stickstofflimitierten Systemen kann die Konzentration von DIN während oder kurz nach Algenblüten unter die Nachweisgrenze absinken. Für eine Station in der südöstlichen Ostsee sind die relativen Verhältnisse der einzelnen Stickstoffklassen beispielhaft in Abhängigkeit von der Tiefe und der Jahreszeit dargestellt (Abb. 2). Dieses Beispiel macht deutlich, dass im DON in der Ostsee - ebenso wie in vielen anderen Seegebieten – ein großer Anteil des Stickstoffs gebunden ist. Da die systeminterne Regeneration des DIN in den Wintermonaten hauptsächlich zu Lasten des DON erfolgt, ist eine möglichst

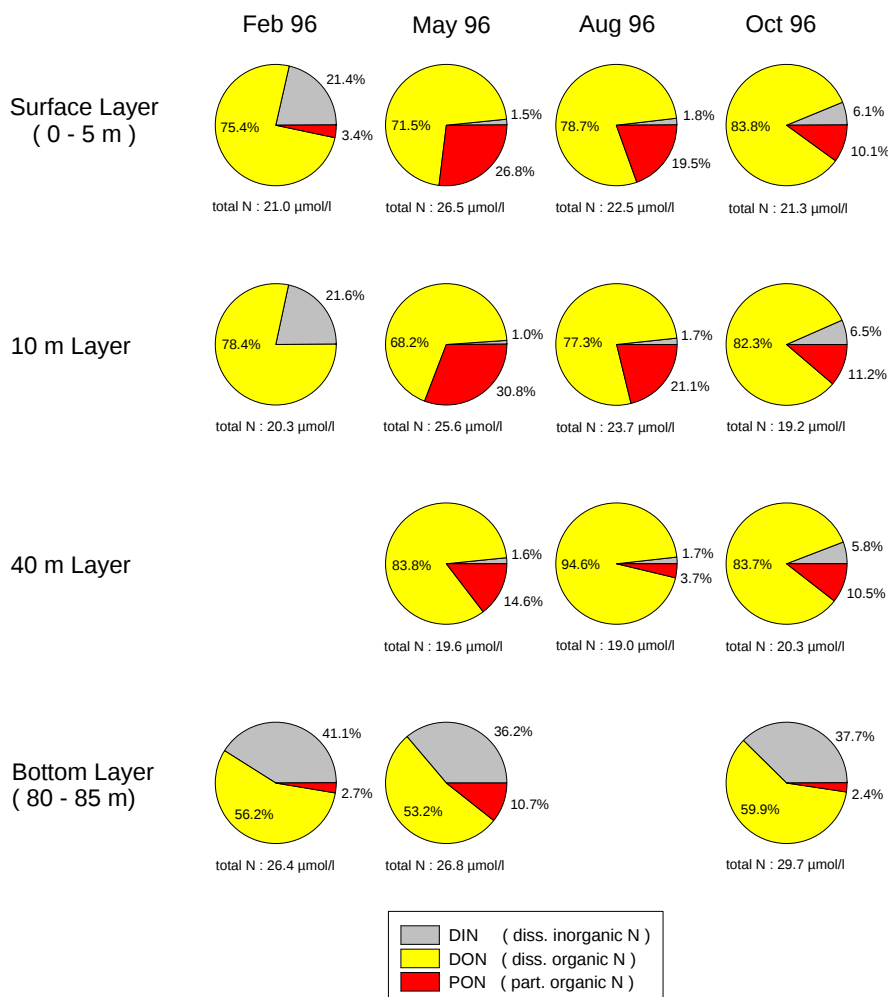
genaue Kenntnis der Veränderungen des DON ein wichtiger Faktor zur Beurteilung des Zustands aquatischer Ökosysteme.

3 Methoden zur Stickstoffbestimmung

Wie bei der Klassifizierung der Stickstoffverbindungen in Abb. 1 dargestellt, lässt sich nur die Klasse DIN in einzelne, chemisch definierte Verbindungen aufteilen. Für diese Verbindungen - Nitrat, Nitrit und Ammonium – sind Methoden zur quantitativen Erfassung in aquatischen Systemen verfügbar. Da sie als 'Nährstoffe' zu den Basisparametern gehören, bereitet ihre Erfassung meist relativ wenig Schwierigkeiten.

Alle übrigen Klassen stickstoffhaltiger Verbindungen umfassen demgegenüber eine Vielzahl, in ihrer chemischen Struktur meist unbekannter Komponenten, die einer direkten quantitativen Bestimmung in der Regel nicht zugänglich sind. Zur Erfassung von TN, PN (PON) und DN ist es deshalb notwendig, alle in der Probe vorhandenen stickstoffhaltigen Stoffe in einem vorgeschalteten Konvertierungsschritt quantitativ in eine einheitliche, sicher erfassbare Verbindung zu überführen. DON als Verbindungsklasse ist auch nach Durchführung eines Konvertierungsschrittes nicht direkt erfassbar, da die hierzu einsetzbaren Reaktionen nicht zwischen organisch und anorganisch gebundenem Stickstoff unterscheiden. DON lässt sich deshalb nur als Differenz aus DN und DIN berechnen. Da sowohl die Bestimmungen von DN als auch die von DIN mit Fehlern behaftet sind, weisen die Werte für DON deutlich größere Fehler auf als die anderer Parameter, wie z.B. der Nährsalze.

Relative Distribution of Nitrogen Compounds during 1996 at Station 259



K.Nagel \ tf9600-d2 \ 08/04/97

Abb. 2 : Relative Verteilung partikulärer (PON) und gelöster anorganischer (DIN) und gelöster organischer (DON) Stickstoffverbindungen zu verschiedenen Jahreszeiten und in verschiedenen Tiefen auf einer Station in der südöstlichen Ostsee
Unter den Einzeldiagrammen ist jeweils die Gesamtstickstoffkonzentration (TN) angegeben.

Für die Überführung organischer und anorganischer Stickstoffverbindungen in einheitliche, analytisch zugängliche Verbindungen stehen im wesentlichen drei Klassen von Methoden zur Verfügung (Abb. 3) :

- der Kjeldahl - Aufschluss
- nasschemische Aufschlüsse
- die katalytische Oxidation

Da der Kjeldahl – Aufschluss, der ein sehr lange bekanntes Verfahren ist (Kjeldahl (1883)), aufgrund des hohen Aufwandes bei der Durchführung und seiner großen Störanfälligkeit in der Umweltanalytik stark an Bedeutung verloren hat, soll auf dieses Verfahren hier nicht weiter eingegangen werden.

Nasschemische Aufschlüsse beruhen darauf, dass organische Verbindungen und anorganische Stickstoffverbindungen unter stark oxidierenden Bedingungen in wässrigem Medium vollständig zu CO_2 und $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ (und einer Reihe weiterer niedermolekularer Oxide anderer Elemente) umgesetzt werden können. Als Oxidationsmittel werden in der Umweltanalytik meist stark oxidierende Verbindungen (z.B. Peroxodisulfat), die Bestrahlung mit UV – Licht oder eine Kombination aus beiden eingesetzt. Zur Bestimmung von DN können die bei der Konvertierung entstandenen Reaktionsprodukte mit den gleichen Verfahren erfasst werden, die auch zur Analytik der stickstoffhaltigen Nährsalze eingesetzt werden. Ausreichend validierte Vorschriften dieser Aufschlussmethoden, die sowohl zur Bestimmung des gelösten organisch gebundenen Kohlenstoffs (DOC) als auch zur Bestimmung von DN (und TN) eingesetzt werden können, sind ab etwa 1960 für den routinemäßigen Einsatz verfügbar (Armstrong et al (1966), Solórzano & Sharp (1980), Koroleff (1983), Collos & Mornet (1993)). Im Laufe der Zeit sind eine Vielzahl von Modifikationen dieser Verfahren beschrieben worden, die sowohl zur Optimierung der Aufschlussbedingungen als auch zur Beseitigung möglicher Störungen bei der anschließenden Quantifizierung der nachzuweisenden Reaktionsprodukte führten.

Bei Bestimmung des DN (und TN) Gehalts aquatischer Proben mit Hilfe nasschemischer Aufschlüsse wird in den letzten Jahren häufig ein von Koroleff eingeführtes Verfahren eingesetzt, zu dem auch eine Reihe von Modifikationen publiziert sind. (Koroleff (1983)). Es entspricht in weiten Teilen der in EN ISO 11905 festgelegten Vorschrift. Diese Verfahren eignen sich primär zur Bestimmung von DN. Wenn der Anteil partikulären Materials hinreichend klein ist, können sie auch zur Erfassung von TN eingesetzt werden. Hierbei sind jedoch eine Reihe von Vorsichtsmaßnahmen zu beachten, die die Gefahr von Verfälschungen der Messergebnisse durch Inhomogenitäten der Probe (sowohl bei der Probennahme als auch bei der Aufarbeitung) und mögliche Adsorption von Partikeln an den Wandungen der verwendeten Gefäße herabsetzen sollen. Eine Bestimmung von PON (PN) ist mit diesen Verfahren nicht möglich.

Die Verfahren der katalytischen Oxidation beruhen darauf, dass die zu untersuchende Probe an einem geeigneten Katalysator bei hohen Temperaturen in einem Gasstrom oxidiert wird. Für feste Stoffe ist dieses Verfahren als 'Elementaranalyse' seit ungefähr 100 Jahren bekannt und ist noch heute – mit entsprechenden Verbesserungen und Modifikationen – das Standardverfahren zur Bestimmung von PON (PN) und partikulär gebundenem Kohlenstoff (POC). In Probenmaterial aus

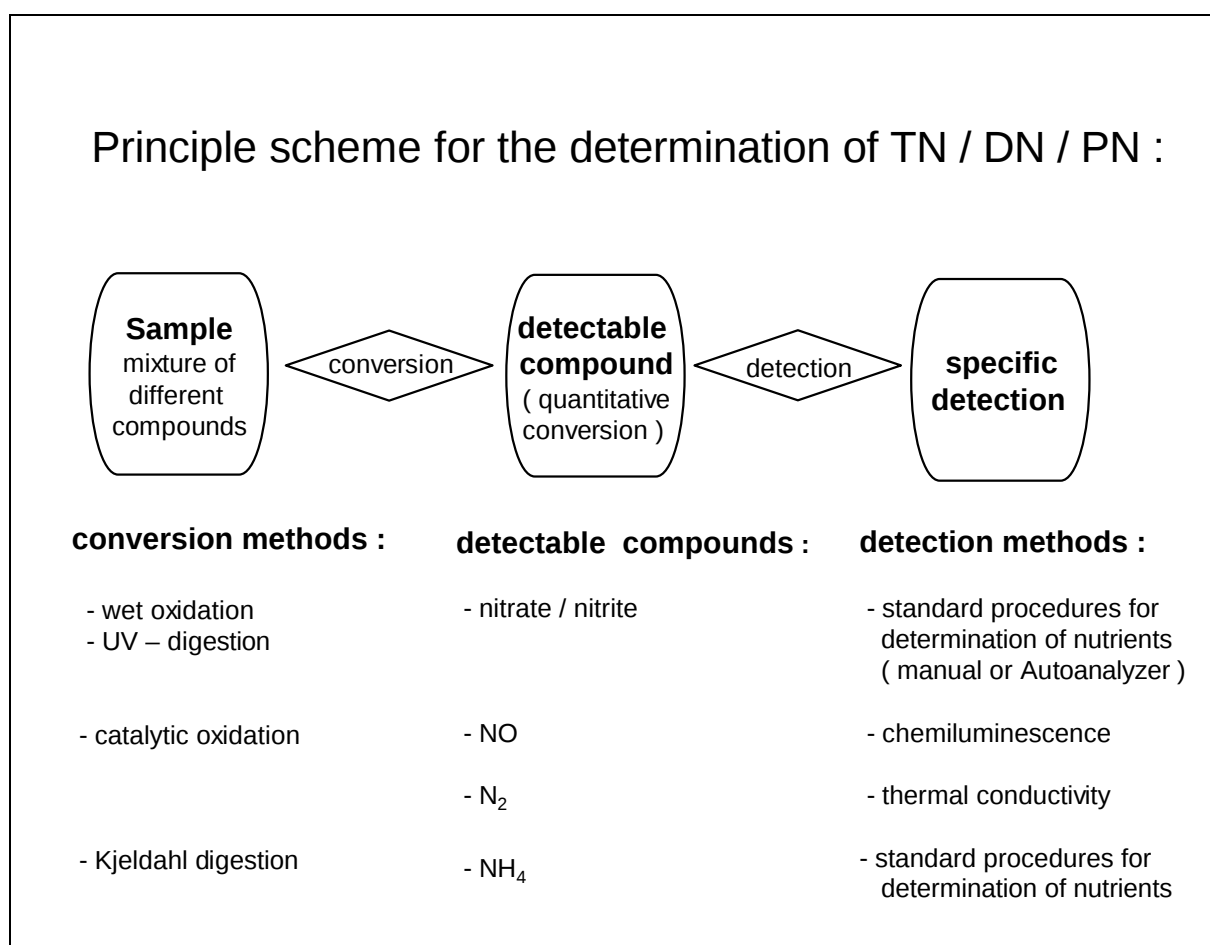


Abb. 3 Schematische Übersicht über Methoden zur Bestimmung von TN / DN und PN

aquatischen Systemen wird das partikuläre Material auf Glasfaserfiltern abgeschieden und direkt auf dem Filter analysiert. Die heute eingesetzten Geräte arbeiten weitgehend automatisiert. Elementaranalysatoren sind für wässrige Proben weniger geeignet.

Ein Durchbruch für die Anwendung der katalytischen Oxidation zur Untersuchung wässriger Proben wurde durch die Arbeiten von Suzuki erreicht (Suzuki et al. (1985)). Da die ersten Veröffentlichungen der mit diesem Verfahren erzielten Ergebnisse deutlich höhere Werte sowohl für DN als auch für DOC ergaben, wurde postuliert, dass sie die in aquatischen Proben vorkommenden Verbindungen vollständiger aufschließen würden als die nasschemischen Verfahren. Diese Annahme konnte in verschiedenen Vergleichsuntersuchungen jedoch nicht verifiziert werden (Übersicht in Hedges & Lee (eds) (1993)). Die Diskussion darüber, welches Verfahren zu einem vollständigeren Aufschluss führt, hat jedoch entscheidend dazu beigetragen, dass sowohl die katalytischen Verfahren als auch die nasschemischen Aufschlussverfahren einer kritischen Revision unterzogen wurden und in einigen Punkten deutliche Verbesserungen erreicht werden konnten.

Zur Zeit sind eine Reihe von Geräten auf dem Markt, die eine weitgehend automatisierte Bestimmung von DN und DOC in wässrigen Proben mit einem relativ geringen Arbeitsaufwand gestatten. Diese Verfahren sind ursprünglich zur Analyse von DN entwickelt worden. Sie gestatten jedoch auch eine Bestimmung von TN, wenn die in der Probe enthaltenen Partikel so klein sind, dass eine Verstopfung der Leitungen im Gerät ausgeschlossen werden kann. Außerdem ist eine homogene Durchmischung der Probe sicherzustellen.

Obwohl in der Vergangenheit entscheidende Fortschritte bei der Durchführung der Bestimmung von DN (TN) erzielt wurden, ist die im Routineeinsatz erzielte Übereinstimmung zwischen verschiedenen Laboratorien noch nicht gut genug, um alle relevanten Fragestellungen hinreichend genau beantworten zu können.

4 Darstellung der im Rahmen dieser Untersuchung verwendeten Methoden

4.1 Kriterien zur Auswahl von zwei zu validierenden Analysemethoden

Aus der Vielzahl publizierter Methoden zur Bestimmung von TN bzw. DN waren zwei Verfahren auszuwählen, die im Rahmen dieses Projekts untersucht und validiert werden sollten. Für die Auswahl der Verfahren wurden die folgenden Kriterien zugrunde gelegt :

- die Methode sollte es gestatten, eine relativ große Anzahl von Proben in einem Analysenlauf unter gleichen Bedingungen zu bearbeiten

- alle relevanten Einzelschritte sollten durch geeignete Kontrollen mit vertretbarem Aufwand in jedem Lauf verifizierbar sein
- auftretende Störungen von Teilschritten sollten bereits während der Analyse erkennbar sein, um durch einen vorzeitigen Abbruch des Analysenlaufes noch nicht untersuchte Proben 'retten' zu können
- der Analysenablauf sollte weitgehend automatisierbar sein
- das benötigte Probenvolumen sollte nicht zu groß sein

Methoden, die alle oben genannten Kriterien erfüllen, haben den Vorteil, dass durch die Integration von verschiedenen Kontroll- und Referenzproben eine genaue Überwachung eines Analysenlaufes möglich ist und Abweichungen und Unregelmäßigkeiten unmittelbar zu Tage treten. Da jedoch die Aufnahme zusätzlicher Proben den Arbeitsaufwand und den Zeitbedarf zur Durchführung eines Analysenlaufes erhöhen, ist eine Vermehrung der Probenzahl durch zusätzliche Kontroll- und Referenzproben nur dann vertretbar, wenn der Arbeitsablauf weitgehend automatisiert ist. Da die Beschaffung von Kontroll- bzw. (zertifizierten) Referenzproben außerdem kostenaufwändig ist, sollte das erforderliche Probenvolumen angemessen klein sein.

Auf der Grundlage dieser Kriterien wurden die folgenden beiden Verfahren im Rahmen dieses Projektes ausgewählt :

- online UV – Aufschluss auf einem Continuous Flow System (CFA – System)
- katalytische Oxidationsmethode bei hohen Temperaturen (HTC – Methode)

Der online – UV Aufschluss auf einem CFA – System zählt zu den nasschemischen Verfahren und gestattet es, aus einer Probe gleichzeitig auch noch die Konzentrationen der Nährsalze zu bestimmen, wenn dafür die entsprechenden Kanäle zur Verfügung stehen. Theoretisch ist auch die Erfassung des gelösten Gesamtposphors mit diesem Verfahren möglich, jedoch sind hierfür deutlich veränderte Aufschlussbedingungen erforderlich, die nicht zu einer Verbesserung der TN – Bestimmung beitragen.

Bei der katalytischen Oxidationsmethode wird die zu untersuchende Probe direkt auf einen Katalysator gegeben, der - abhängig vom eingesetzten Verfahren – auf eine Temperatur zwischen 680°C und über 1000°C aufgeheizt ist. Die entstehenden Reaktionsprodukte werden im Gasstrom direkt photometrisch (DOC – Bestimmung) oder mit Hilfe eines Chemolumineszenzdetektors (TN / DN Bestimmung) erfasst und ausgewertet. Abgesehen von der Filtration der Probe – soweit erforderlich – und der Vorbereitung des Gerätes zur Messung sind keine weiteren Arbeitsschritte erforderlich. Kommerziell sind geeignete Analysatoren zur TN – Bestimmung nach dem HTC –

Verfahren erst seit wenigen Jahren verfügbar. In einer Reihe von Laboratorien sind jedoch DOC – Analysatoren modifiziert und mit einem Stickstoffdetektor (Chemilumineszenzdetektor) nachgerüstet worden (sog. Hybrid – Analysatoren) (Hansell (1993), Álvarez-Salgado & Miller (1998), Cauwet (1999)). Sowohl die Hybrid - Analysatoren als auch mehrere der kommerziell verfügbaren Geräte gestatten es bei einer entsprechenden Ausrüstung, in einer Probe gleichzeitig DN (TN) und DOC (TOC) zu erfassen.

4.2 Kurzbeschreibung des eingesetzten online – UV Aufschlusses

Im Rahmen dieses Projekts stand ein CFA – System der Firma SKALAR zur Verfügung (SKALAR SAN^{plus} Segmented Flow Analyser), das mit drei Messkanälen ausgerüstet war. Neben dem Kanal zur Durchführung des online – UV Aufschlusses zur TN - Bestimmung standen je ein Kanal zur Bestimmung von Nitrat/Nitrit und Ammonium zur Verfügung. Die Steuerung des gesamten Systems und die Erfassung und Auswertung der Messwerte erfolgte mit Hilfe des SKALAR SAN^{plus} software package. Die Software gewährleistet nicht nur die Definition eines Analysenlaufes und stellt die Zuordnung von Messergebnissen und Probenbezeichnungen sicher, sondern führt automatisch bereits während der Analyse eine Reihe von Berechnungen und statistischen Auswertungen durch. Hierzu zählen z.B. die graphische Darstellung der Einzelmessungen, die Korrekturen der Drift von Basislinie und Empfindlichkeit, die Ermittlung statistischer Kenngrößen der Kalibrierung und eine Reihe von Hilfsgraphiken, die eine schnelle visuelle Erfassung von Abweichungen und möglichen Fehlern unterstützen. Ein Beispiel für eine typische Bildschirmansicht ist in Abb. 4 dargestellt. Da die direkte Ausgabe und Bearbeitung der Originaldaten (graphische Daten, Messwerte und berechnete Daten) eine installierte, lauffähige Version der Gerätesteuerungssoftware voraussetzt, wurden die Daten mit einem programmeigenen Tool auch in ein Excel – Format konvertiert und so für weitere Auswertungen unabhängig von dem Rechner zur Gerätesteuerung bereitgestellt. Ein Ausriss eines konvertierten Ergebnisprotokolls ist im Anhang A1 gezeigt.

Der Aufbau der Reaktionseinheit (Manifold) für den online – UV Aufschluss orientierte sich an dem Aufbau, der in einer Arbeit von Westernströer (Westernströer (1999)) beschrieben ist und der in einigen Punkten modifiziert und angepasst wurde. Der schematische Aufbau des Kanals ist in Abb. 5 dargestellt. Zur Untersuchung spezieller Fragestellungen wurde dieser prinzipielle Aufbau entsprechend modifiziert, z.B. durch Integration eines Heizbades oder durch den Einbau von Vorrichtungen, um während des Analysenlaufes Proben zur Kontrolle der Reaktionsbedingungen zu nehmen (z.B. um an verschiedenen Stellen den pH-Wert messen zu können). Für die Kanäle

zur Bestimmung von Nitrat/Nitrit und für Ammonium wurden Standardverfahren eingesetzt (Brockmann & Kattner (1997)).

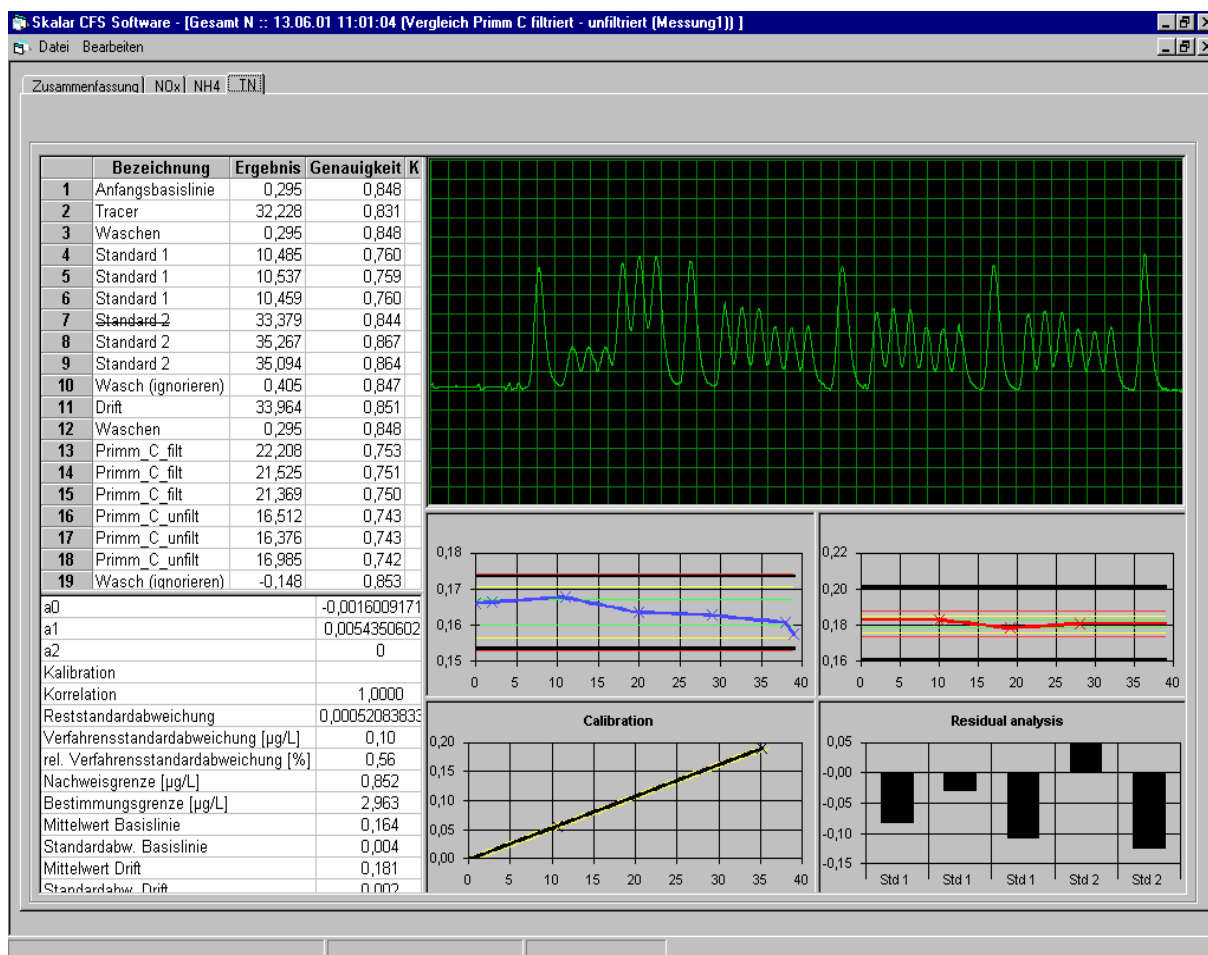


Abb. 4 : Beispiel der Bildschirmansicht während einer Analyse mit dem SKALAR SAN^{plus} Segmented Flow Analyser unter Verwendung des SKALAR SAN^{plus} software package

Zur Detektion wurden in allen Kanälen sog. Matrix – Photometer eingesetzt, bei denen die Extinktion in der Probenlösung gleichzeitig bei zwei Wellenlängen erfasst werden kann. Die Messzellen dieser Photometer gestatten es, Matrixeffekte (z.B. Schlierenbildung bei Mischung unterschiedlich dichter Medien) weitgehend zu kompensieren. In den Kanälen zur Bestimmung von TN und Nitrat/Nitrit wurden im Messkanal Filter von 540 nm eingesetzt, im Referenzkanal Filter von 620 nm. Der Ammoniumkanal wurde mit Filtern von 660 nm (Messkanal) bzw. 1010 nm (Referenzkanal) bestückt. Die Schichtdicke der Küvetten betrug in allen Kanälen 50 mm.

Zum Auftragen der Proben stand ein Probennehmer (SKALAR SA1050) zur Verfügung, der ein Aufnahmevermögen von bis zu 140 einzelnen Proben und bis zu 11 verschiedenen Standards hatte.

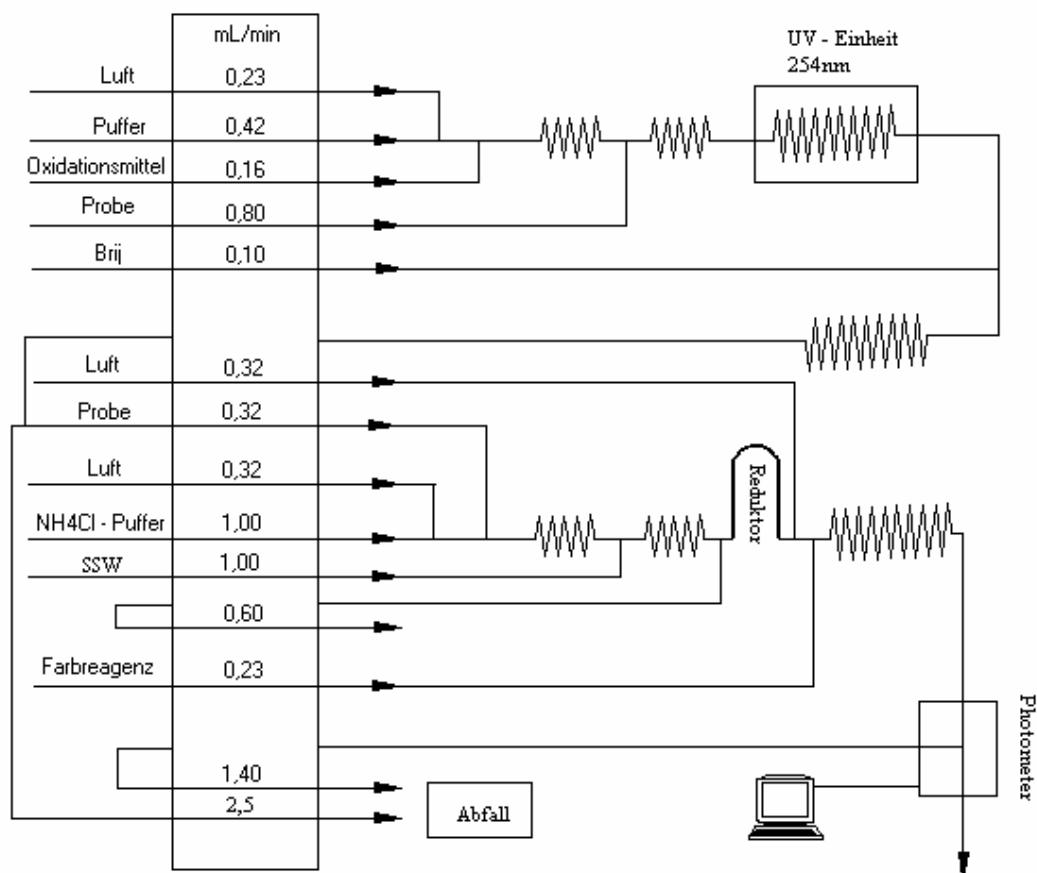


Abb. 5 : Grundschemata des Manifolds zur Bestimmung von DN (TN) mit dem online – UV Aufschluss auf dem SKALAR SAN^{plus} Segmented Flow Analyser (modifiziert nach Westernströer (1999)).

4.3 Kurzbeschreibung der eingesetzten HTC - Methode

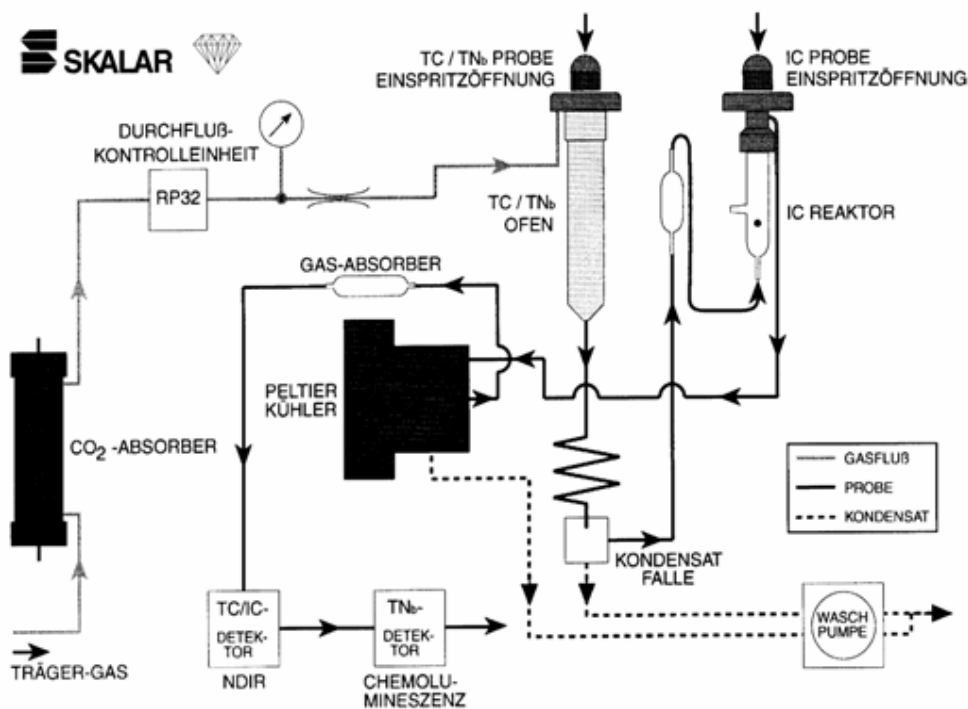
Die DN (TN) Messungen im Rahmen dieses Projektes wurden mit einem FORMACS^{HT} TOC Analyser der Firma SKALAR durchgeführt, der mit einem ND10 Total Nitrogen Detector (SKALAR) ausgerüstet war. Der schematische Aufbau der analytischen Einheit und des Detektors ist in Abb. 6 dargestellt. Da dieses Gerät nur zur Erfassung von DN (TN) beschafft wurde, fehlen die zur TOC – Bestimmung erforderlichen Komponenten (im wesentlichen IC – Reaktor, IC – Injektionsport, TC/IC Detektor).

Standardmäßig wurde ein CoCr - Katalysator (SKALAR Catalyst for ND, P/N 2CA10317) bei einer Katalysatortemperatur von 850°C und einem Trägergasstrom von 325 ml/min eingesetzt. Als Trägergas diente kohlenstoff- und stickstofffreie Luft, die mit Hilfe eines TOC – Gasgenerators

(Whatman Gas – Generator Typ 78-40 für TOC - Analysatoren) erzeugt wurde. Das Standard – Probenvolumen für eine Injektion betrug 100 µl. Die Proben wurden durch eine automatisch gesteuerte Injektionsspritze aus den Probenvials entnommen und direkt auf den heißen Katalysator aufgetragen. Vor jeder Probennahme wurden die Proben durch einen Rührer ca. 30 s lang gerührt, um Inhomogenitäten zu vermeiden.

Die am Katalysator zu NO umgesetzten Stickstoffverbindungen werden im Detektor erfasst und als 'Peak' vom Auswertesystem dargestellt (Abb. 7). Die Konzentration ist dabei proportional zur Fläche der Peaks. Zur Bestimmung der DN – Konzentration einer Probe wurden standardmäßig der Mittelwert und die Standardabweichung aus 4 Injektionen berechnet. Wenn die Standardabweichung mehr als 1% des Messwertes betrug, waren bis zu 3 zusätzliche Injektionen der Probe zulässig. Für jede zusätzliche Injektion wurde das Einzelergebnis bei der Auswertung gestrichen, das den größten Beitrag zur Standardabweichung lieferte. Dieser Vorgang wurde abgebrochen, wenn entweder die Standardabweichung unter 1% sank oder die maximale Anzahl zusätzlicher Injektionen erreicht war. Sowohl die Grenze der Standardabweichung als auch die Anzahl der durchzuführenden Einzelinjektionen für jede Probe können im Programm verändert werden. Die oben angegebenen Werte sind den für die Untersuchungen üblicherweise zur Verfügung stehenden Probenvolumina und der verfügbaren Analysenzeit angepasst. Das 'Messergebnis' für eine zu untersuchende Probe ist der nach dem oben beschriebenen Verfahren berechnete Mittelwert aus den Ergebnissen der Einzelinjektionen und der berechneten Standardabweichung.

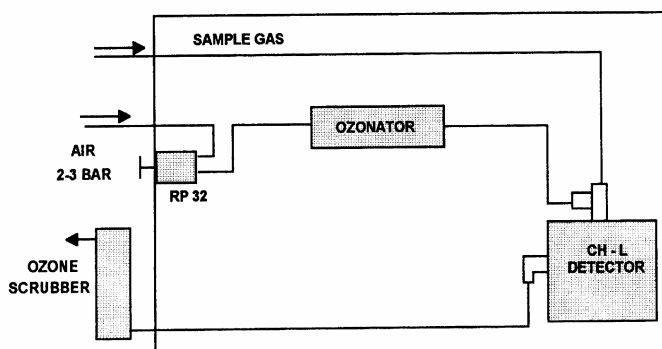
Sowohl die Steuerung des TN – Analysators als auch die erste Auswertung wird von einer gerätespezifischen Software (SKALAR Windows TOC/TN Software) durchgeführt. Ein Beispiel für



Schematisches Diagramm der analytischen Einheit

ND 10 Total Nitrogen Detector

Carbon Instruments



Schematic diagram of the ND 10 analytical section

Abb. 6 : Schematischer Aufbau des FORMACS^{HT} TOC Analysators (oben) und des ND 10 Total Nitrogen Detector (unten).

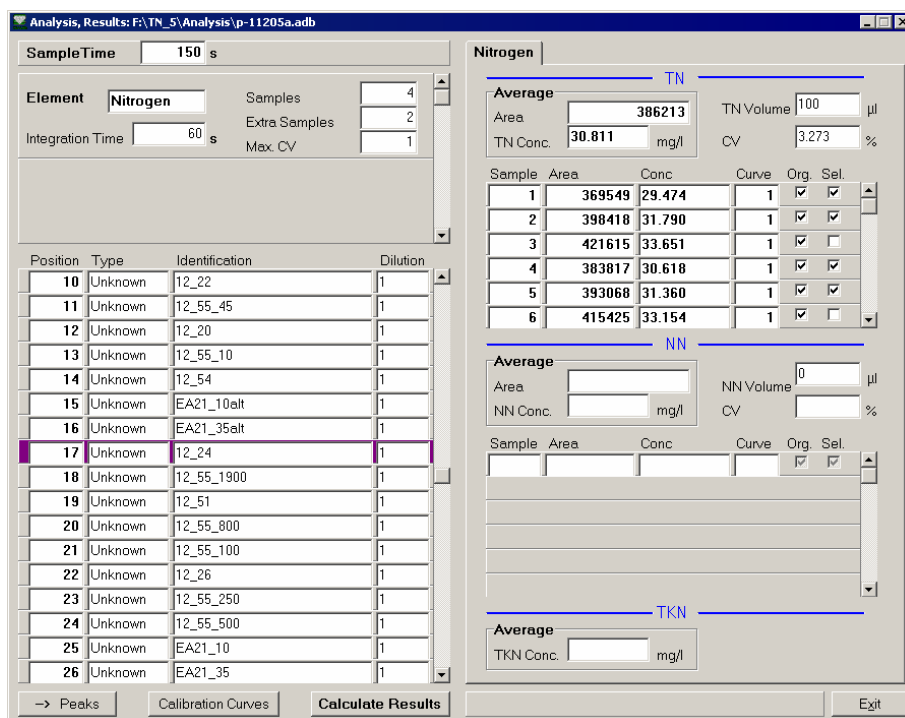
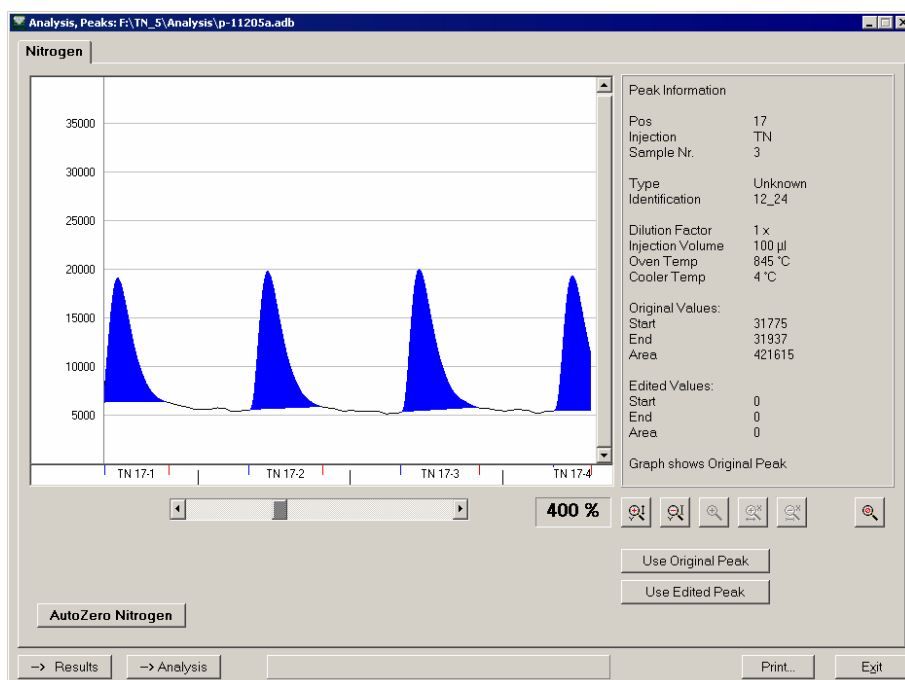


Abb. 7 : Beispiele von Bildschirmansichten während einer Analyse mit dem SKALAR FORMCS^{HT} TOC/TN – Analysator. Dargestellt sind die graphische Darstellung der Signale der Einzelinjektionen (oben) und die Ansicht der Berechnung der Resultate (unten)
Dieses Beispiel zeigt die Messergebnisse von Proben der Vergleichsmessung vom Herbst 2001 (vergl. 6)

die Bildschirmdarstellung während eines Analysenlaufes sowohl für die graphische Darstellung der 'Peaks' der einzelnen Injektionen als auch der Bildschirm zur Berechnung der Ergebnisse ist in Abb. 7 dargestellt. Ein Beispiel für einen Ausdruck der Analysenergebnisse in im Anhang A2 gezeigt. Zur weiteren Auswertung wurden die Messwerte der einzelnen Proben in eine Datenbank exportiert, die den spezifischen Erfordernissen der Routinemessungen angepasst war.

Am Ende der Projektlaufzeit bestand die Möglichkeit, zusätzlich zu dem SKALAR TN - Analysator auch einen Hybrid – Analysator einzusetzen. Dieser bestand aus einem SHIMADZU TOC5000 TOC – Analysator, an den ein SKALAR ND10 Total Nitrogen Detector gekoppelt war. Der Vorteil dieses Systems besteht darin, dass in einer Probe gleichzeitig TOC und TN bestimmt werden können, wobei die TOC – Bestimmung auf diesem System durch verschiedene Vergleichsmessungen abgesichert ist. Dieses Hybrid – System wurde unter anderem für zwei Vergleichsmessungen eingesetzt (vergl. 6). Da die Empfindlichkeit dieses Systems für TN noch nicht abschließend optimiert ist, sollen in diesem Bericht keine detaillierten Verfahrenskenndaten angegeben werden.

4.4 Prinzipielles Schema zur Durchführung von Analysenläufen zur TN Bestimmung

Ein Problem bei einer automatisch gesteuerten Durchführung längerer Analysenläufe besteht darin, Veränderungen während der Laufzeit der Analyse erkennen und gegebenenfalls korrigieren zu können. Für die Durchführung von TOC und TN Bestimmungen nach der HTC - Methode ist in den letzten Jahren ein allgemeines Schema zur Durchführung von Analysenläufen entwickelt worden, von dem nur dann abgewichen wird, wenn es technisch zwingend erforderlich ist. Dieses Schema wurde nach entsprechenden Adaptationen auch auf das online – UV Verfahren angewendet. Durch dieses Verfahren sollen die folgenden Punkte überprüft und sichergestellt werden:

- das System besitzt keinen erhöhten Blindwert (d.h. keine Kontamination durch vorangegangene Läufe)
- die Kalibrierung ergibt 'normale' Werte für die Steigung und den Achsenabschnitt und zeigt keine auffälligen Abweichungen von der Linearität
- durch laborinternes oder externes (zertifiziertes) Referenzmaterial wird die Richtigkeit der Messergebnisse sichergestellt
- spätestens nach je 6 Proben erfolgt eine Messung eines Kontrollmaterials, um eine mögliche Drift in den Werten oder andere Fehlerquellen erkennen zu können

In der Regel werden hierzu die zur Kalibrierung benutzten Standards und Blindwertkontrollproben benutzt

- alle Proben werden zweimal unabhängig voneinander gemessen, wobei eine möglichst große Zeitspanne zwischen beiden Messungen anzustreben ist.

Dieses Verfahren liefert eine Reihe von Kontrollgrößen, die zum großen Teil von den Auswertungsprogrammen abgefragt und in Datenbanken gespeichert werden können. Zumindest für stabil laufende Systeme ergibt sich damit die Möglichkeit, Abweichungen oder Fehlfunktionen der Gerätesysteme frühzeitig erkennen zu können. Da die Messung der Blindwertkontrollen, der Kalibrierung und der Referenzproben zu Beginn des Analysenlaufes erfolgt, kann ein Lauf rechtzeitig vor der Bestimmung der zu untersuchenden Proben abgebrochen werden, wenn Unregelmäßigkeiten erkennbar sind. Auch systematische Abweichungen zwischen den beiden Bestimmungen der zu untersuchenden Proben deuten auf einen instabilen Analysenlauf hin.

Zur Kalibration für die DN – Bestimmungen wurde im Rahmen dieser Untersuchungen EDTA (Titriplex III p.A., Merck) verwendet. Bevor externes Referenzmaterial zur Verfügung stand, dienten Lösungen aus Nitrat - oder EDTA – Standards als laborinterne Kontrollmaterialien. Seit Ende 2001 wird für TN (und DOC) Bestimmungen nach der HTC - Methode in jedem Lauf externes Referenzmaterial zur Kontrolle des Geräteblindwertes und der Richtigkeit der Bestimmung verwendet (Hansell (2001)). Aufgrund des geringen Probenvolumens des Referenzmaterials (ca. 8 ml/Ampulle) und seiner Konservierungsmethode eignet es sich nur sehr bedingt zum Einsatz bei der online – UV Methode.

4.5 Verfahren zur Validierung der eingesetzten Methoden

Die Validierung und die Erfassung und Überprüfung der Verfahrenskenngrößen erfolgte anhand der in der 'Leitlinie zur Methodvalidierung' beschriebenen Verfahren (Wellmütz et al. (1999)). Falls hier mehrere Verfahren zur Bestimmung einer Verfahrenskenngröße aufgeführt sind, wird bei der Darstellung der Ergebnisse auf das verwendete Verfahren hingewiesen.

Die bei der Auswertung benutzten Messwerte sind - soweit nicht anders angegeben - die Mittelwerte aus einer zweifachen Messung der Probe, wobei jede der beiden Messungen wiederum den Mittelwert aus wenigstens 4 bis höchstens 7 Einzelmessungen darstellt, wobei die Messung einer Probe abgebrochen wurde, wenn eine Standardabweichung von wenigstens 1% erreicht wurde.

5 Validierung der untersuchten Methoden zur TN - Bestimmung

5.1 Vorbemerkungen

Ein Ziel der in diesem Projekt durchzuführenden Untersuchungen bestand darin, neben der eigentlichen Validierung der Methoden auch Möglichkeiten zu untersuchen, die Methoden zu verbessern und für ein breites Spektrum verschiedener Wasserproben anwendbar zu machen. Hierzu wurden eine Reihe von Modifikationen bestehender Methoden daraufhin getestet, ob sie zu einer Effizienzsteigerung beitragen können.

Da es zum Zeitpunkt der Beantragung und des ersten Jahres der Projektlaufzeit noch problematisch war, geeignetes Referenzmaterial für die TN - Bestimmung zu beschaffen, lag ein anderes Ziel des Projekts darin, nach Möglichkeiten zur Beschaffung von Referenzmaterial zu suchen.

5.2 Validierung der HTC – Methode

5.2.1 Untersuchung verschiedener Randbedingungen der Methode

Obwohl die TN – Methode auf den ersten Blick sehr einfach handhabbar zu sein scheint, lohnt es sich doch, einen kritischen Blick auf die exakten Randbedingungen zu werfen, unter denen die Analysen durchgeführt werden. Die mit einem Gerät unter den gegebenen Laborbedingungen erreichbaren Spezifikationen können häufig dadurch deutlich verbessert werden, dass von den empfohlenen 'Standardbedingungen' abgewichen wird. Welche Verbesserungsmöglichkeiten hier zu erreichen sind, soll an dieser Stelle nur an wenigen Beispielen verdeutlicht werden.

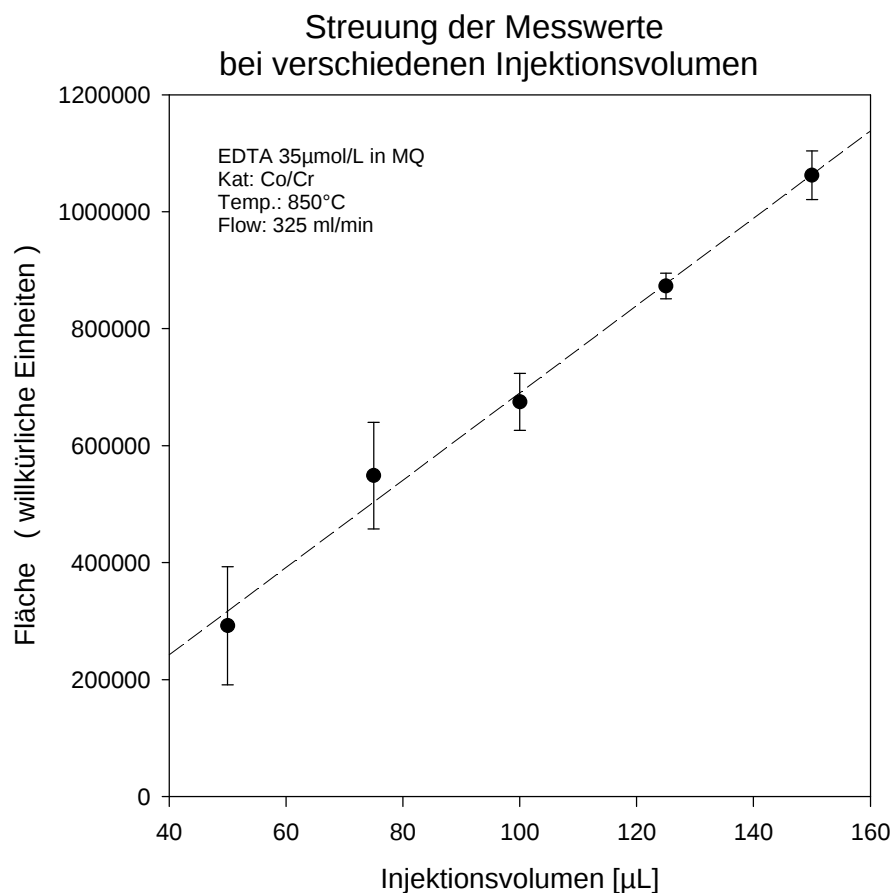
Bei HTC – Verfahren, bei denen die einzelnen Schritte des Reaktionsablaufes in einer strömenden Gasphase ablaufen, ist immer mit Abweichungen zwischen Mehrfachbestimmungen zu rechnen, die in der Regel über denjenigen liegen, die z.B. in wässrigen Reaktionslösungen zu erreichen sind. Dies ist darauf zurückzuführen, dass es eine Reihe von Faktoren gibt, die die Reproduzierbarkeit der Einzelmessungen herabsetzen (z.B. Temperatur- oder Druckschwankungen im Gerät selbst oder im Labor). Da diese Schwankungen jedoch zufällig verteilt sind, lassen sie sich durch geeignete Auswerteverfahren weitgehend kompensieren. Eine

hierzu geeignete Methode ist das bereits erwähnte Verfahren, eine Probe mehrfach zu bestimmen und eine begrenzte Zahl von Werten zu eliminieren, die einen besonders großen Beitrag zur Standardabweichung zwischen den Einzelmessungen liefern.

Die 'Streuung' der Einzelmessungen wird jedoch auch noch durch andere Faktoren beeinflusst. Einer dieser Faktoren ist das injizierte Probenvolumen (Abb. 8). Es ist erkennbar, dass es – unter den gegebenen Reaktionsbedingungen - ein Minimum der Streuung bei einem Injektionsvolumen von ca. 125 µl gibt. Relativ geringe absolute Konzentrationen, größere Ungenauigkeiten bei der Dosierung kleinerer Probenvolumina und eine mögliche Verdunstung eines Teils der Probenlösung vor Erreichen der Katalysatoroberfläche tragen dabei zu den höheren Abweichungen bei der Injektion kleinerer Probenvolumina bei. Große Probenvolumina verursachen Probleme, weil sich das Volumen der Probe beim Übergang von der flüssigen in die Gasphase stark vergrößert. Dies führt im Analysensystem dazu, dass sich eine Druckwelle im Gerät aufbaut und zumindest kurzfristig zu einem instabilen Gasfluss führt. Die Druckwelle wird dabei um so größer, je größer das Probenvolumen ist. Da eine Reihe der bei der Validierung berechneten Parameter (z.B. Reproduzierbarkeit, Nachweisempfindlichkeit) jedoch direkt oder indirekt durch die Streuung der Messwerte beeinflusst wird, liefert die Optimierung des Probenvolumens einen wichtigen Beitrag zur Steigerung der Effizienz der Methode.

Ein anderer Parameter, der die Empfindlichkeit des Systems deutlich beeinflussen kann, ist die Geschwindigkeit und die Menge des Trägergases, in der sowohl die Umwandlung der stickstoffhaltigen Verbindungen zu NO als auch die Reaktionen zur Quantifizierung der entstandenen Reaktionsprodukte erfolgen (Abb. 9). Abhängig vom Gerätetyp hat der Anwender in der Regel nur eingeschränkte Möglichkeiten, hier einzugreifen. Jedoch ließ sich durch Veränderungen des Gasstroms im Reaktor bei dem in diesem Projekt verwendeten Gerät eine Steigerung der Empfindlichkeit um ca. 50% gegenüber der vom Hersteller empfohlenen 'Standardeinstellung' erreichen. Da konstante Druck- und Strömungsverhältnisse im Gerät ein wichtiger Faktor zur Erzielung genauer und reproduzierbarer Werte sind, besitzen die meisten Analysatoren technische Vorrichtungen (unterschiedliche Leitungsquerschnitte, Restriktoren zur Begrenzung von Gasströmen, etc.), die konstante Bedingungen garantieren sollen. Diese können vom Anwender häufig nicht verändert werden.

Die Leistungsfähigkeit von TN – Analysatoren wird auch durch den verwendeten Katalysatortyp und die Temperatur im Reaktor beeinflusst. Im Rahmen dieses Projekts wurden hierzu die folgenden Katalysatoren getestet :



O.Primm/01.09.13/IV_abh.jnb

Abb. 8 : Abhängigkeit der Streuung der Messwerte vom Injektionsvolumen der Probe

- CoCr Katalysator (SKALAR P/N 2CA10317)
- Pt Katalysator (SHIMADZU P/N 017-42801)
- CuO Katalysator (Merck Best. No.2767)
- Cu Katalysator (Merck Best. No. 2701)
- CeO Katalysator (zum Test von der Firma Skalar zur Verfügung gestellt)

Bei den Messungen mit dem Shimadzu TOC5000 / Skalar ND10 Hybridsystem wurde ein anderer Pt – Katalysator verwendet, der von der Firma Shimadzu vertrieben wird (SHIMADZU P/N 638-

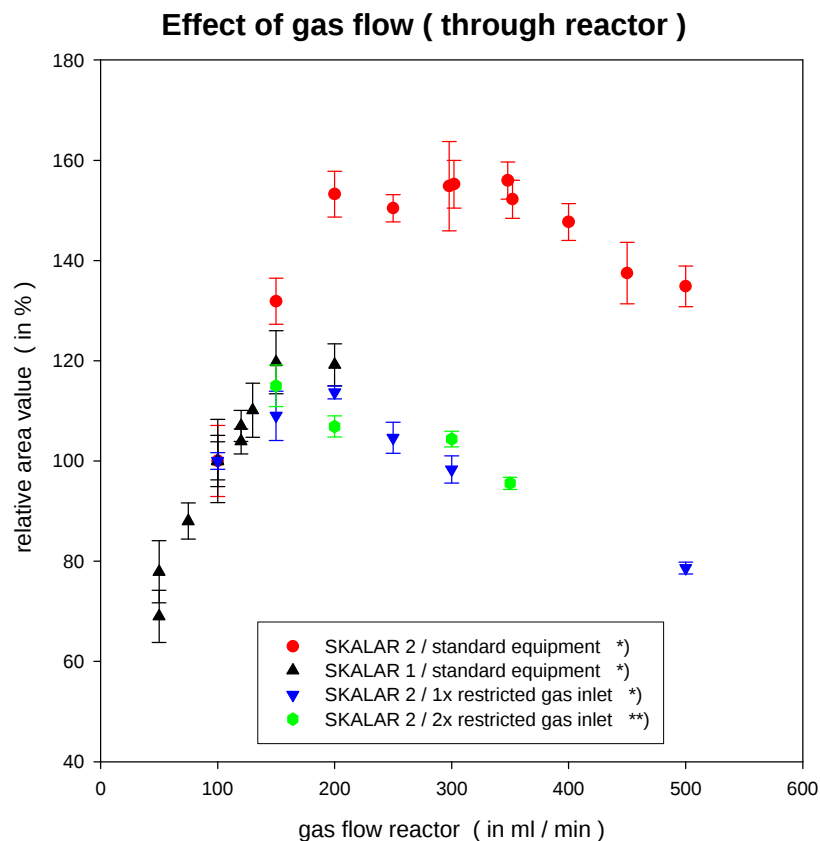
60116). Für einige dieser Katalysatoren ist die genaue chemische Zusammensetzung durch die Herstellerfirmen nicht veröffentlicht.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abb. 10 dargestellt. Es zeigte sich, dass bei den untersuchten Katalysatoren für eine in reinem Wasser gelöste Stickstoffverbindung (EDTA in Milli Q+ Wasser) eine deutliche Steigerung der Katalysatorwirkung mit steigender Temperatur zu beobachten ist. Die Katalysatortypen zeigen dabei deutliche Unterschiede bezüglich der Temperatur, bei der sie die maximale Effizienz erreichen. Während für den CoCr Katalysator das Wirkungsoptimum bereits bei 850 °C erreicht wird, ist das Maximum für Kupferkatalysatoren bei 950 °C noch nicht erreicht. Bemerkenswert ist, dass im Temperaturbereich zwischen 650 °C und 700 °C, in dem die meisten TOC – Analysatoren arbeiten, die Katalysatorwirkung für die Umsetzung von Stickstoffverbindungen deutlich unter derjenigen liegt, die bei höheren Temperaturen erreicht werden kann.

Diese Ergebnisse, die mit einer in Reinstwasser angesetzten reinen Stickstoffverbindung als Testverbindung erhalten wurden, lassen sich grundsätzlich auch mit natürlichen Proben wiederholen. Allerdings gibt es eine Reihe von Faktoren, die die praktische Verwendbarkeit einzelner Katalysatoren im Routinebetrieb sehr stark einschränken. Als Beispiel seien hier die Kupferkatalysatoren angeführt, die bei hohen Temperaturen eine sehr große Effizienz besitzen. Beim Einsatz von natürlichen Seewasserproben kommt es unter diesen Bedingungen jedoch zu gravierenden Reaktionen zwischen Bestandteilen der Probe und dem Quarzrohr, das den Reaktionsraum umschließt, in dem sich der Katalysator befindet. Obwohl es bei der Messung von z.B. Seewasserproben immer in gewissem Umfang zu Reaktionen zwischen Probenbestandteilen und den Quarzrohren kommt, beschleunigen einige Katalysatortypen die Zersetzung so stark, dass die Quarzrohre sehr schnell zerstört werden (Abb. 11).

Die praktische Einsetzbarkeit eines Katalysators kann auch noch durch andere Faktoren mehr oder weniger stark beeinträchtigt werden. So zeigte der getestete CeO Katalysator eine zu geringe mechanische Stabilität und zerfiel bereits nach relativ kurzen Einsatzzeiten in sehr kleine Stücke, besonders bei der Untersuchung von Seewasserproben. Diese Zerfallsprodukte führten zu Verstopfungen im Systems, die nach relativ kurzer Zeit zu Undichtigkeiten im Analysator führten.

Einige Katalysatoren, bei denen erhebliche Probleme in dem im Projekt verwendeten Gerät auftraten, werden in anderen kommerziell verfügbaren TN - Analysatoren standardmäßig als Katalysatoren eingesetzt. Diese Systeme verfügen in der Regel jedoch über andere Verfahren zur Applikation der Proben oder über Vorrichtungen, an denen einige Probenbestandteile zurückgehalten werden, bevor sie auf den Katalysator gelangen.



Standardization :

*) area value at gas flow of 100 ml/min = 100%

**) area value at gas flow of 150 ml/min = 115%

Instruments used :

SKALAR 1 : CA-10 TOC Analyzer with ND10 Detector

SKALAR 2 : FORMACS TOC/TN_b Analyzer with ND10 Detector

Restriction :

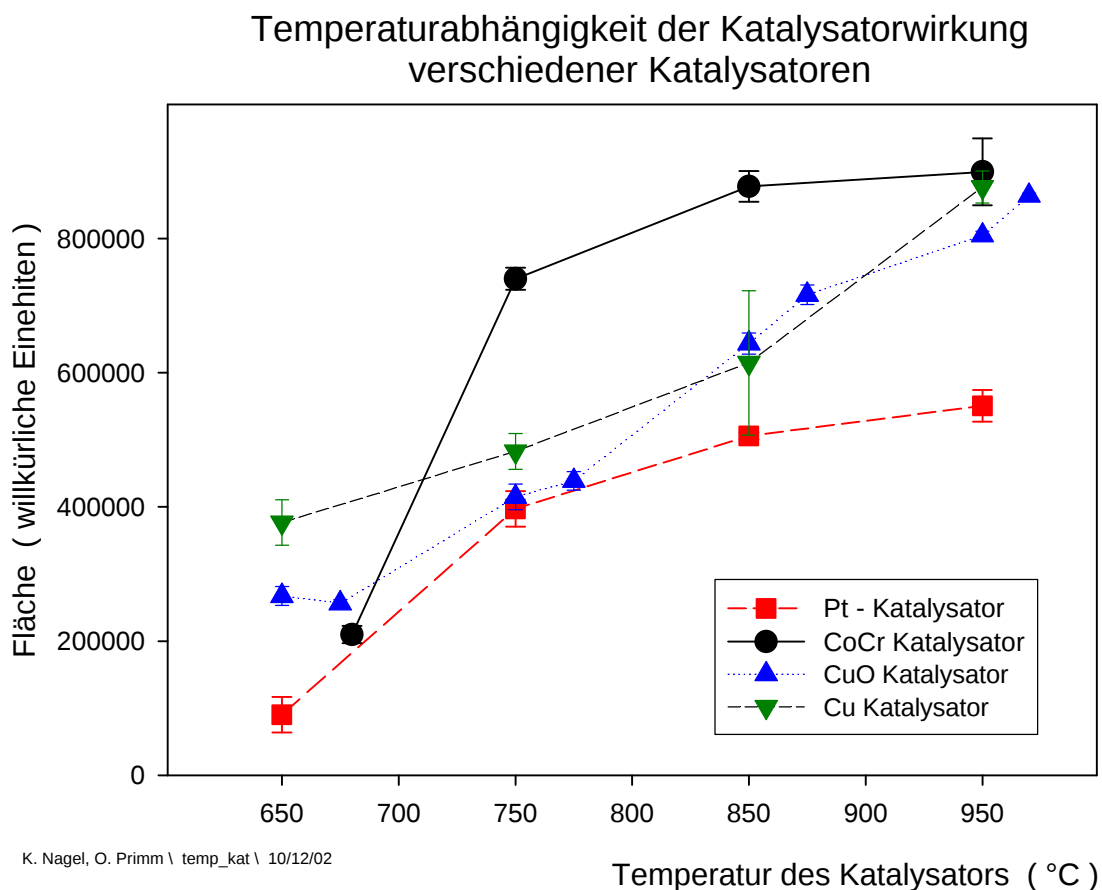
1x : gas inlet line of TC injection port restricted by a tflon tube

2x : gas inlet line of TC injection port restricted by a tflon tube + HPLC - capillary

K. Nagel , O. Primm \ flow_02 \ 10/07/01

Abb. 9 : Darstellung der Abhängigkeit des Gasflusses durch den Reaktor des TN – Systems und der relativen Empfindlichkeit des Gerätes

Für alle Messungen wurde der CoCr – Katalysator bei einer Reaktortemperatur von 850°C eingesetzt.



K. Nagel, O. Primm \ temp_kat \ 10/12/02

Abb. 10 : Temperaturabhängigkeit der Katalysatorwirkung verschiedener Katalysatoren. Es wurden jeweils 125 µl Probe bei einem Gasfluss von 325 ml/min eingestzt. Als Probe diente EDTA, das in MQ – Wasser gelöst war (Konz. 35µM N).
Getestete Katalysatoren :

- CoCr Katalysator (Skalar P/N 2CA10317)
- Pt Katalysator (Shimadzu P/N 017-42801)
- CuO Katalysator (Merck Best. No 2767)
- Cu Katalysator (Merck Best. No 2701)

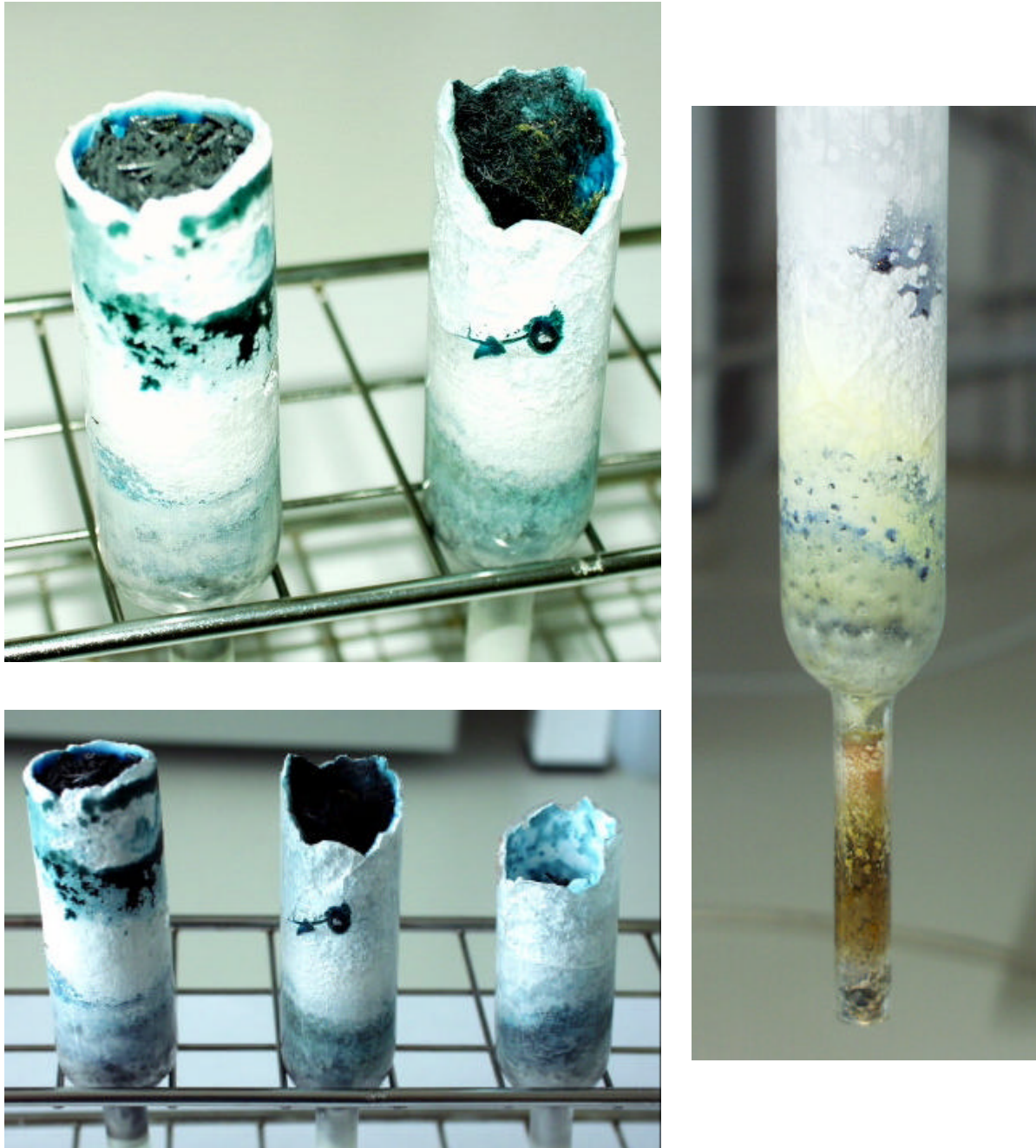


Abb. 11 : Beispiele für die Zersetzung der Quarz - Reaktoren, in denen sich der Katalysator befindet. Das Ausmaß der Zersetzung der Quarzrohre hängt von der Art der eingesetzten Probe, dem Katalysator und der Temperatur des Reaktors ab.

Die im folgenden angegebenen Validierungsparameter beziehen sich auf das im Rahmen dieses Projekts verwendete Gerät (SKALAR FORMACS^{HT} TOC Analyzer, SKALAR ND10 Total Nitrogen Detector) mit dem technischen Stand zwischen Ende 2000 und Anfang 2002. Inzwischen sind auch von der Herstellerfirma technische Änderungen durchgeführt worden, die zu einer weiteren Verbesserung der Analysenqualität beitragen. Wichtige Anstöße zu einer Reihe von Modifikationen sind auf Vergleichsmessungen im Graduate College of Marine Studies der University of Delaware in Lewes (Labor Prof. J. Sharp) zurückzuführen, bei der eine Reihe verschiedener TN – Analysatoren in einem direkten Vergleich in einem Labor unter gleichen Bedingungen getestet wurden (Sharp et al. (2002c; Sharp et al (2003)) (vergl. auch 6).

5.2.2 Bestimmung der Validierungsparameter der HTC – Methode

Soweit technisch möglich, wurden für die oben aufgeführten Katalysatoren die wichtigsten Validierungsparameter bestimmt und in Tab. 1 zusammengestellt. Dabei zeigten sich für alle untersuchten Katalysatoren im wesentlichen vergleichbare Ergebnisse, wobei die Verwendbarkeit der einzelnen Katalysatoren in dem zur Verfügung stehenden System durch Faktoren beeinflusst wird, die nicht unmittelbar mit der TN – Bestimmung in Zusammenhang stehen (vergl. 5.2.1). Es soll jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass die Messungen zwischen Herbst 2000 und Sommer 2001 durchgeführt wurden und dem damaligen technischen Stand entsprachen.

Die Linearität der HTC – Methode erfolgte durch einen Vergleich der linearen und quadratischen Kalibrierfunktion. Für den CoCr – Katalysator ist ein solcher Test für einen Arbeitsbereich zwischen 0 µM N und 60 µM N in Abb. 12 dargestellt. Die Methode kann auch für höhere Bereiche geeicht werden, wobei eine andere elektronische Verstärkung gewählt werden muss (vergl. Anhang A3). Da sich durch Veränderung der Verstärkung jedoch auch die untere Nachweisgrenze ändert, soll die Darstellung hier auf den Konzentrationsbereich beschränkt bleiben, der für die Untersuchung der meisten natürlichen Proben relevant ist. Die Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze erfolgte anhand der Blindwertstreuung, wobei die Nachweisgrenze das dreifache, die Bestimmungsgrenze das zehnfache der Standardabweichung des Blindwertes beträgt (Wellmitz et al. (1999)). Die Ergebnisse für den CoCr Katalysator sind in Abb. 13 gezeigt. Die entsprechenden Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die anderen Katalysatoren sind in Tab. 1 aufgelistet. Die Methodenstabilität wurde durch die Messung einer natürlichen (stabilisierten) Seewasserprobe an 7 Tagen durchgeführt, wobei ausdrücklich darauf hingewiesen werden muss, dass aufgrund des

Bestimmung der Nachweisgrenze und Methodenstabilität

(anhand der Blindwertstreuung ; Matrix : 'synthetisches Seewasser' (34 ‰))

Parameter	Katalysator	CoCr	Pt	CeO	CuO	Cu	AAN ¹⁾	
Nachweisgrenze (in µmol / l N)		2.34	2.88	3.79	3.42	1.46	2.13	
Bestimmungsgrenze (in µmol / l N)		7.02	8.65	11.36	10.26	4.38	6.40	
Blindwertbestimmung :								
Mittelwert ²⁾		59971	71194	79472	114151	46186	0.2199	
relative Standardabweichung (in %)		26.3	29.9	31.6	19.2	21.3	1.7	
Methodenstabilität ³⁾								
- Mittelwert (in µmol / l N)		19.76	22.70	28.06			21.02	
- Abweichung (in %)		2.20	7.0	20.8			2.61	

¹⁾ modifiziert nach Westermarck ; ²⁾ HTC – Methode : willkürliche Flächeneinheiten ; AAN : Extinktionseinheiten
³⁾ Messung an 7 Tagen ; Probe : natürliche Seewasserprobe (Stegprobe) ; zur Messung wurden verschiedene Proben eingesetzt !
 Alle Daten sind ausreißerfrei nach dem Grubbs - Test

K.Nägel / O. Primm \ bestgr_1b \ 29.06/01

Tab. 1 : Zusammenstellung der Nachweisgrenzen, Bestimmungsgrenzen und der Methodenstabilität für die verschiedenen untersuchten Katalysatoren und die online - UV Methode

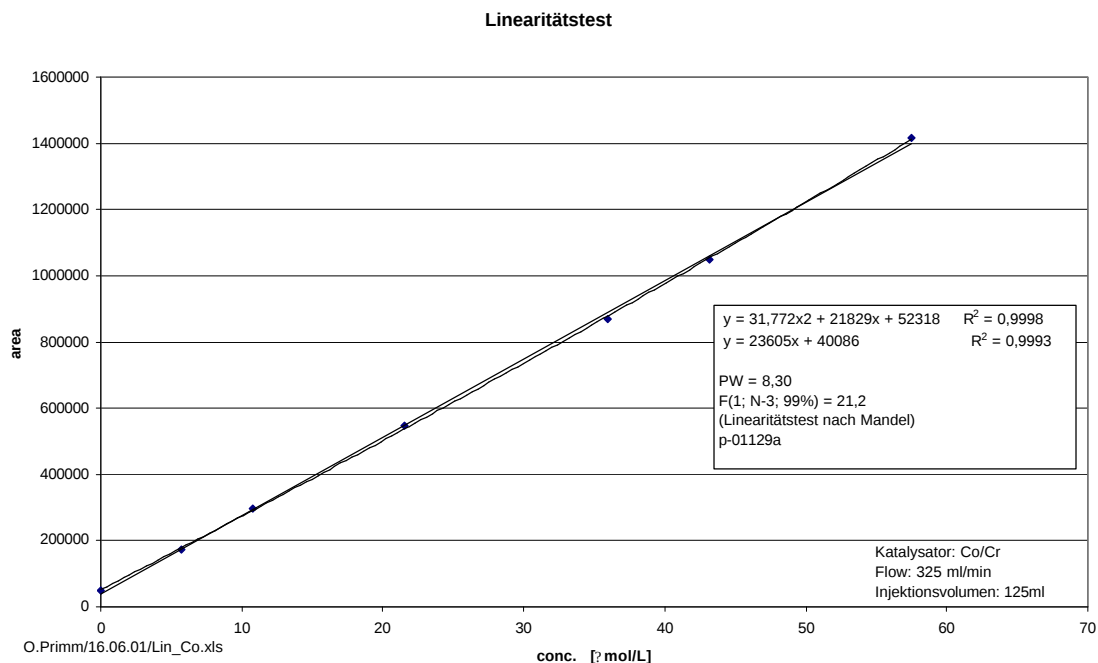


Abb. 12 : Linearitätstest zur Validierung der HTC - Methode

Versuchsbedingungen : CoCr – Katalysator bei 850°C, Gasfluss 325 ml/min;

Injektionsvolumen 125 µl;

Jeder der dargestellten Messwerte ist der Mittelwert aus 4(+2) Einzelinjektionen
(s.dev. level : 1%).

Zeitversatzes der Messungen unterschiedliche Proben verwendet wurden. Für Cu und CuO Katalysatoren konnten die Messungen nicht zu Ende geführt werden, da die Katalysatorrohre vor Abschluss der Messungen undicht wurden. Während sich bei CoCr und Pt Katalysatoren tägliche Mittelwerte ergaben, die um einen gemeinsamen Mittelwert streuten, zeigte der CeO Katalysator ein deutlich abweichendes Verhalten (Abb. 14). Wie bereits oben erwähnt, besaß der getestete CeO Katalysator eine geringe mechanische Stabilität und zerfiel nach mehreren Analysenläufen in relativ feine Stücke. Dadurch veränderten sich nicht nur die Strömungs- und Druckverhältnisse im System, sondern auch die Größe der Katalysatoroberfläche. Da der getestete CeO Katalysator für Routineuntersuchungen wenig geeignet erscheint, soll auf dieses Ergebnis nicht weiter eingegangen werden.

Dadurch, dass Doppelbestimmungen innerhalb einer Analyse mit einem möglichst großen Zeitversatz durchgeführt werden, lässt sich die Stabilität innerhalb jeden einzelnen Analysenlaufs

kontrollieren. Wenn das Gerät während des gesamten Laufes stabil gearbeitet hat und keine signifikante Drift auftritt, ist der Mittelwert der Differenzen zwischen beiden Bestimmungen für alle Proben Null oder liegt zumindest nahe bei Null. Analysen, bei denen eine deutliche Abweichung von der statistischen Verteilung der Differenzen innerhalb der Doppelbestimmungen gefunden wurde, sind in der Regel verworfen worden. Die Stabilität der Methode über einen längeren Zeitraum wurde anhand von laborinternem Kontrollmaterial bzw. externem Referenzmaterial sichergestellt (vergl. 4.4).

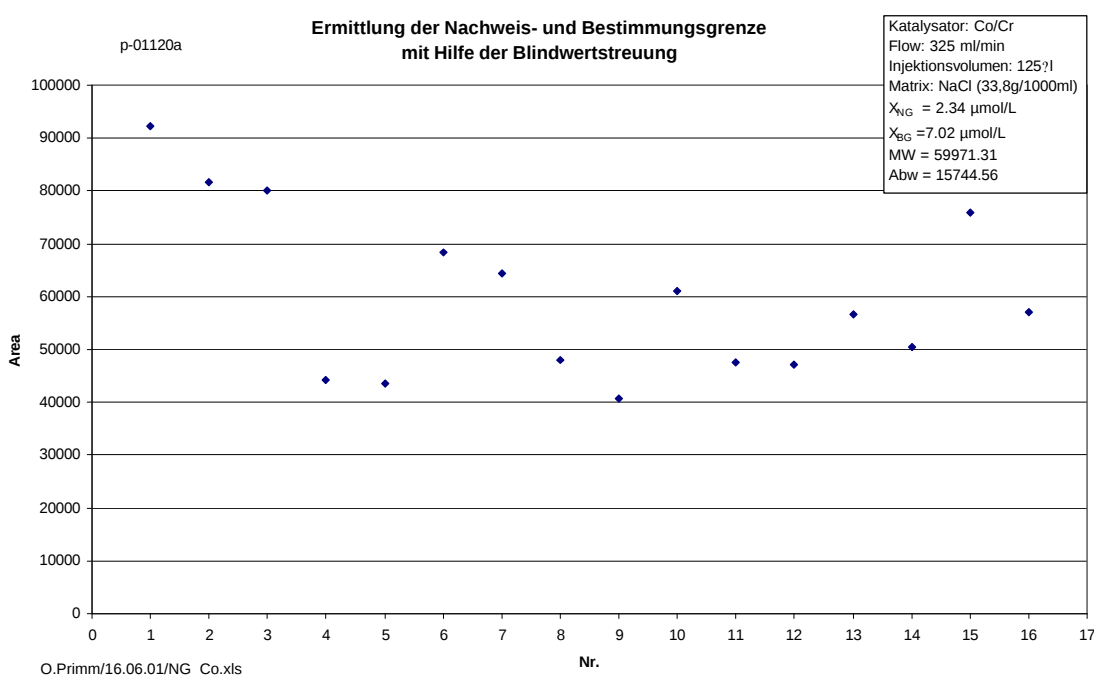


Abb. 13 : Ermittlung der Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze mit Hilfe der Blindwertstreuung
Versuchsbedingungen : CoCr – Katalysator bei 850°C, Gasfluss 325 ml/min;
Injektionsvolumen 125 µl;
Jeder der dargestellten Messwerte ist der Mittelwert aus 4(+2) Einzelinjektionen (s.dev. level : 1%).

Ein wichtiges Kriterium zur Beurteilung eines Messverfahrens ist Selektivität bzw. Spezifität. Da zum Zeitpunkt der Durchführungen der Untersuchungen kein geeignetes natürliches Referenzmaterial zur Verfügung stand, wurden ersatzweise eingewogene Mengen verschiedener reiner Substanzen verwendet. Diese wurden sowohl in reinem Wasser (MQ – Wasser aus einer

Milli-Q+ Anlage) als auch in synthetischem und natürlichem Seewasser gelöst. Für den CoCr Katalysator schwankt die Wiederfindungsrate einiger ausgewählter, in natürlichem Seewasser gelöster Substanzen dabei zwischen 88% und 120% (Abb. 15), wenn in MQ - Wasser gelöstes EDTA zur Kalibrierung verwendet wird.

Vergleicht man direkt die Wiederfindungsrate für einzelne Substanzen, die einmal in MQ – Wasser, zum anderen in synthetischem Seewasser (40 ‰ NaCl) gelöst sind, so ist der Unterschied für den CoCr Katalysator relativ gering (Abb. 16). Wird jedoch ein Pt Katalysator (Shimadzu P/N 017-42801) (bei einer Katalysatortemperatur von 850 °C) verwendet, zeigt sich schon für eine EDTA - Lösung eine deutliche Abhängigkeit vom Salzgehalt (Abb. 17). Mehrbefunde in salzhaltigen Proben können verschiedene Ursachen haben, sieht man einmal von einer Kontamination des eingesetzten NaCl ab (diese Kontaminationen kann durch die Verwendung von reinem NaCl und eine zusätzliche Vorbehandlung des Salzes weitgehend ausgeschlossen werden). Da bekannt ist,

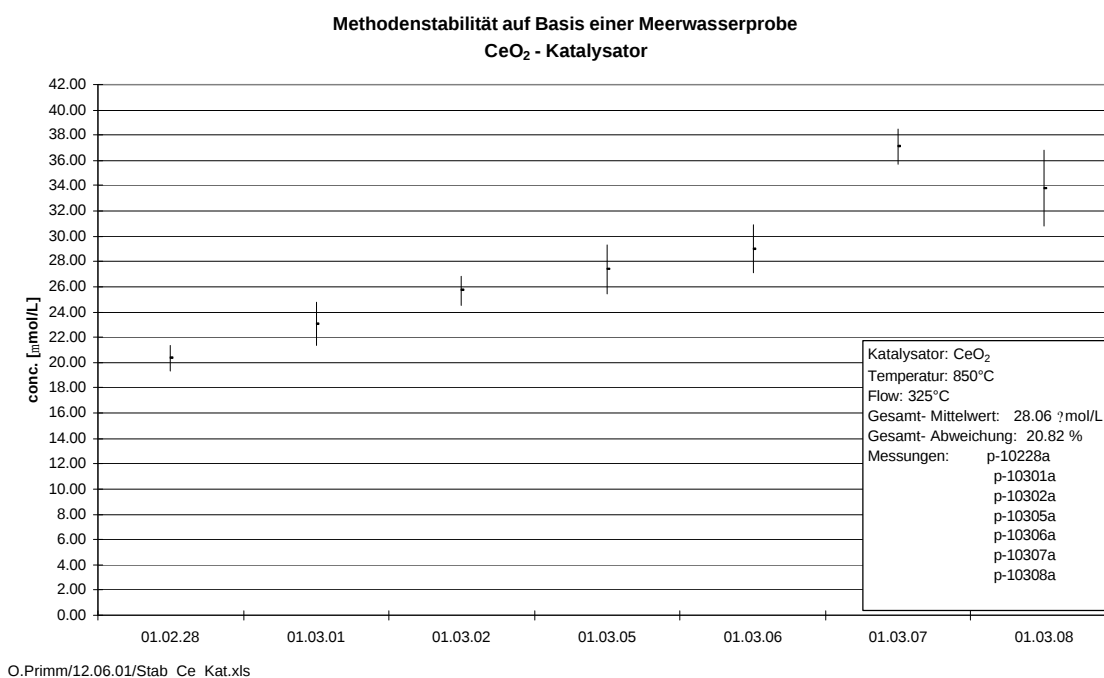
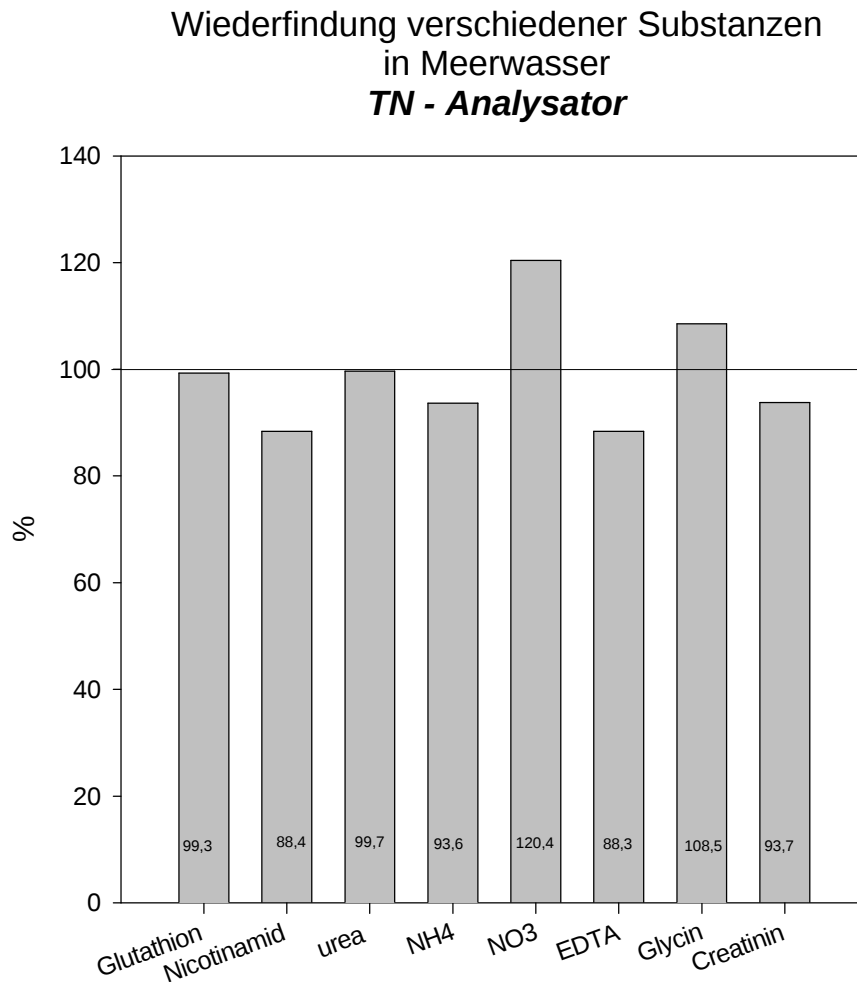


Abb. 14 : Bestimmung der Methodenstabilität für einen CeO₂ – Katalysator
Versuchsbedingungen : CeO₂ – Katalysator bei 850°C, Gasfluss 325 ml/min;
Injektionsvolumen 125 µl;
Die dargestellten Messpunkte und Standardabweichungen sind die Mittelwerte aus 10 Messpunkten, die jeweils als Mittelwert aus 4(+2) Einzelinjektionen (s.dev. level : 1%) berechnet wurden.
Als Probe wurde stabilisiertes natürliches Seewasser eingesetzt.



O.Primm/06.09.01/subst_vgl_spike TN.jnb

Abb. 15 : Wiederfindungsraten verschiedener reiner Substanzen, die in einer natürlichen Seewasserprobe gelöst waren. Die Werte sind bezogen auf eine Kalibrierung mit EDTA, das in MQ – Wasser gelöst war.
Die Messungen erfolgten unter Standardbedingungen an einem CoCr Katalysator.

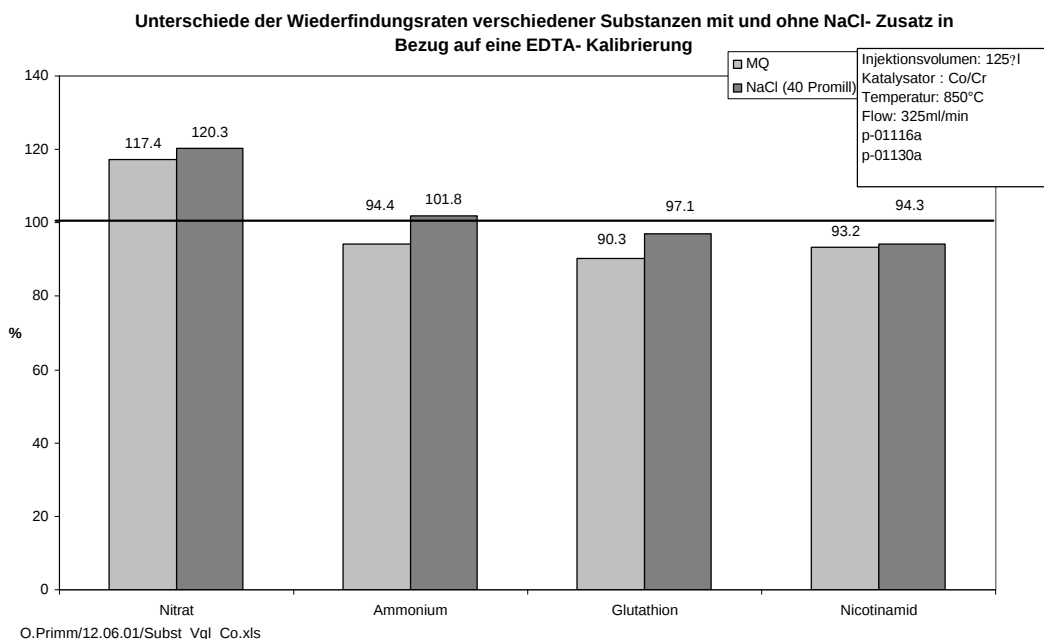


Abb. 16 : Vergleich zwischen den Wiederfindungsraten ausgewählter reiner Substanzen, die in MQ – Wasser und synthetischem Seewasser (40 ‰ NaCl) gelöst sind. Die Messungen erfolgten an einem CoCr Katalysator unter Standardbedingungen.

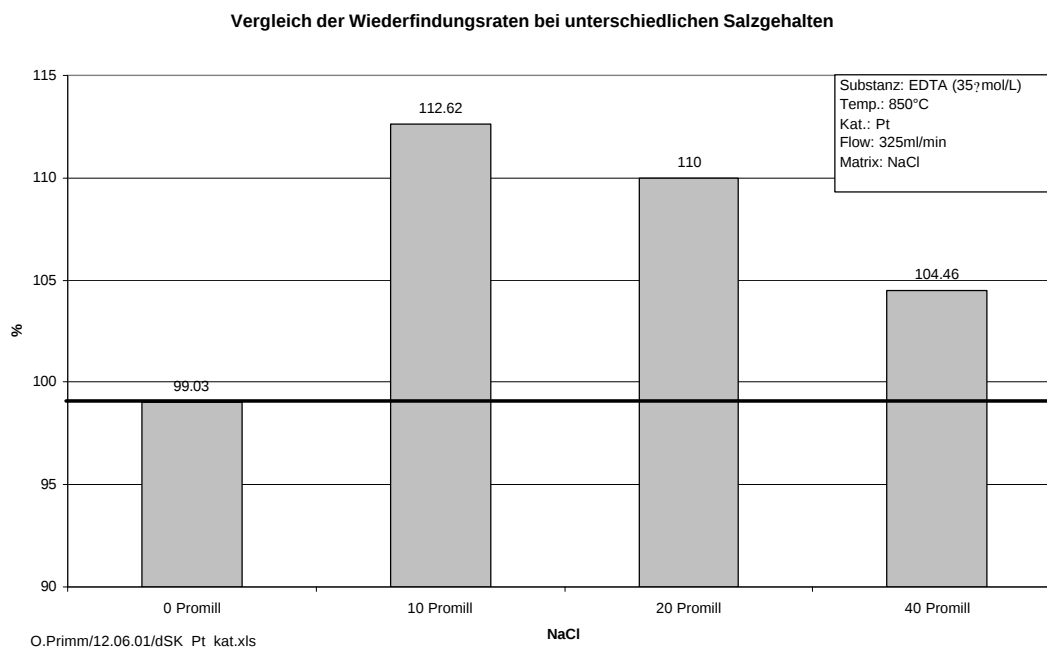


Abb. 17 : Einfluss steigender Salzkonzentrationen auf die Wiederfindungsrate von EDTA. Als Katalysator wurde ein Pt – Katalysator bei einer Temperatur von 850°C eingesetzt.

dass Chlor die Detektion von NO im Chemilumineszenzdetektor stört, wäre zu prüfen, ob das am Katalysator gebildete Chlor in ausreichendem Maße vor dem Detektor aus dem Gasstrom entfernt wird. Auch die Trocknung des Gasstromes vor dem Detektor könnte einen störenden Einfluss haben. Diese Faktoren hängen jedoch in sehr hohem Maße von den individuellen Gegebenheiten des eingesetzten Gerätes ab und können nur schwer kontrolliert werden.

Vergleicht man die ermittelten Validierungsparameter (Tab. 1), so sprechen eine Reihe von Gründen für den Einsatz des CoCr Katalysators. Er besitzt bereits bei vergleichsweise geringen Temperaturen eine relativ hohe Empfindlichkeit und zeigt nur eine relativ geringe Salzabhängigkeit.

Ein Nachteil dieses Katalysators ist jedoch, dass er aufgrund seiner Instabilität gegenüber verdünnten Säuren nicht zur Analyse angesäuerter Proben verwendet werden kann und deshalb bei Verwendung dieses Katalysators eine gleichzeitige Bestimmung von TN und TOC ausgeschlossen ist. Der getestete Pt Katalysator (Shimadzu P/N 017-42801) gestattete zwar eine gleichzeitige Bestimmung von TN und TOC, ist jedoch aufgrund seiner deutlichen Salzabhängigkeit weniger zur TN - Bestimmung in Proben mit deutlichen Unterschieden im Salzgehalt geeignet. Auf die Wiederfindung verschiedener reiner Substanzen soll auch später im Zusammenhang mit der Diskussion der Vergleichsmessungen noch einmal eingegangen werden (vergl. 6).

5.3 Validierung der online – UV Methode

5.3.1 Untersuchung verschiedener Randbedingungen der Methode

Für die Untersuchungen standen zwei verschiedene Manifolds zur Verfügung. Das eine basierte auf einem von der Firma SKALAR vertriebenen Versuchsaufbau, der die gleichzeitige Erfassung von TN und TP gestattet (Skalar 1994). Zum anderen wurde ein von Westernströer vorgeschlagenes System eingesetzt, das an die Gegebenheiten des zur Verfügung stehenden SKALAR SAN^{plus} Segmented Flow Analysers angepasst wurde (Westernströer (1999)). Das von Westernströer beschriebene Verfahren gestattet im Gegensatz zu dem von Skalar vorgeschlagenen Verfahren nur die Bestimmung von TN. Der wesentliche Unterschied zwischen beiden Versuchsaufbauten bestand darin, dass in dem von Skalar vorgesehenen Manifold dem Aufschluss in der UV - Einheit ein Heizbad vorgeschaltet war und die Reaktionsprodukte vor der Bestimmung des Nitrat / Nitrits einem Dialyseschritt unterworfen wurden, um korrekte Reaktionsbedingungen sicherzustellen. Der von Westernströer vorgeschlagene Aufbau verzichtet auf das Heizbad vor der UV – Einheit und umgeht den Dialyseschritt durch eine relativ große

Verdünnung der Aufschlussprodukte mit einem geeigneten Puffer. Das Heizbad vor der UV – Einheit ist nur dann notwendig, wenn mit dem Verfahren auch TP erfasst werden soll.

Beide Verfahren sind grundsätzlich geeignet, TN in dem zu untersuchenden Probenmaterial zu erfassen. Aufgrund des längeren Weges in der von Skalar vorgeschlagenen Versuchsanordnung einschließlich des Dialyseschrittes ist der Zeitbedarf dieses Verfahrens größer als der in dem von Westernströer verwendeten Aufbau. Hinzu kommt, dass durch die relativ späte Zugabe des Netzmittels in dem Skalar Verfahren etwas schlechter auswertbare Peaks erhalten werden als nach dem anderen Fließschema.

Für die Untersuchungen im Rahmen dieses Projekts wurde deshalb das von Westernströer beschriebene Verfahren für die weiteren Untersuchungen verwendet, wobei die Vorschriften zum Ansetzen der Reagenzien für alle auf dem CFA – System durchgeführten Bestimmungen übernommen wurden (Westernströer (1999)). Durch den zusätzlichen Einbau von Möglichkeiten, kleine Probenmengen ($> 50 \mu\text{l}$) an verschiedenen Stellen aus dem System zu entnehmen, konnten die Reaktionsbedingungen während des Analysenlaufes kontrolliert werden. Besonderes Augenmerk richtete sich dabei auf die Einhaltung des pH – Wertes zur Bestimmung von Nitrat / Nitrit.

5.3.2 Bestimmung der Validierungsparameter für das online - UV Verfahren

Analog zur HTC – Methode wurden auch für das online – UV Verfahren die Validierungsparameter bestimmt, wobei sich die Angaben auf den Aufbau der Methode nach Westernströer beziehen. Die ermittelten Werte sind zusammen mit denen für das HTC – Verfahren in Tab. 1 aufgelistet.

Die Linearität des Verfahrens wurde durch den Vergleich der Kalibrierfunktion 1. und 2. Grades getestet. Für den Messbereich bis $50 \mu\text{M N}$ sind die Ergebnisse in Abb. 18 gezeigt. Bei einer Ausdehnung des Arbeitsbereiches über $50 \mu\text{M}$ hinaus wirkt die Menge des Oxidationsmittels limitierend. Durch eine Konzentrationserhöhung des Oxidationsmittels um 50% lässt sich der Arbeitsbereich bis auf über $200 \mu\text{M}$ ausdehnen (Anhang A3). Dabei ist jedoch die Einhaltung der exakten Reaktionsbedingungen besonders streng zu kontrollieren, um Fehlmessungen zu vermeiden.

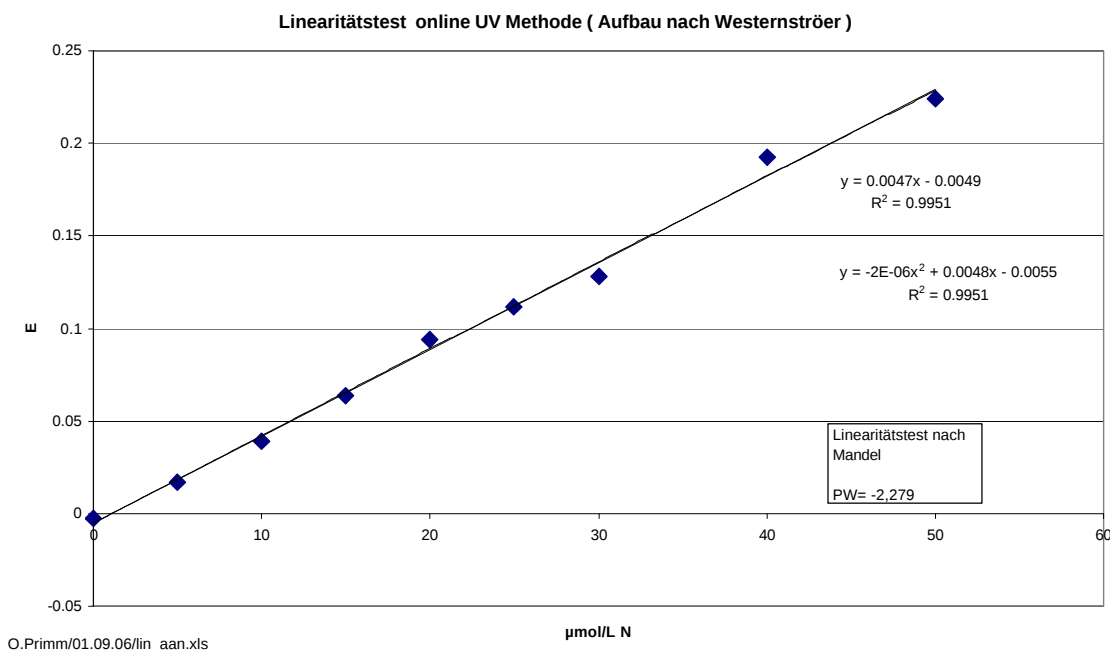


Abb. 18 : Linearitätstest des online – UV Verfahrens im Arbeitsbereich bis 50 µM N.

Die Methodenstabilität wurde durch die Messung einer natürlichen (stabilisierten) Seewasserprobe an 7 Tagen überprüft. Die Ergebnisse, die in Abb. 19 gezeigt sind, weisen das online – UV Verfahren als recht robuste Methode aus (Tab. 1). Die Stabilität innerhalb eines Analysenlaufes erfolgte - wie bei der HTC – Methode – bei jeder Analyse durch die Kontrolle der Differenzen zwischen den Mehrfachbestimmungen. Läufe, die eine auffällige Instabilität zeigten, wurden von weiteren Auswertungen ausgeschlossen.

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden wiederum mit Hilfe der Blindwertstreuung ermittelt, wobei die Nachweisgrenze das dreifache, die Bestimmungsgrenze das zehnfache der Standardabweichung des Blindwertes beträgt (Abb. 20). Die berechneten Werte sind zusammen mit den Ergebnissen für die HTC – Methode in Tab. 1 aufgelistet.

Die online – UV Methode zeigt eine geringe Abhängigkeit vom Salzgehalt, die etwa in der gleichen Größenordnung liegt wie die der HTC – Methode bei Verwendung des CoCr Katalysators (Abb. 21). Werden Proben gemessen, die etwa alle den gleichen Salzgehalt besitzen, kann dieser Salzeffekt durch Verwendung einer salzhaltigen Sperrflüssigkeit oder durch den Ansatz der Eichstandards in einer Salzmatrix berücksichtigt werden. Ohne natürliches Referenzmaterial, das

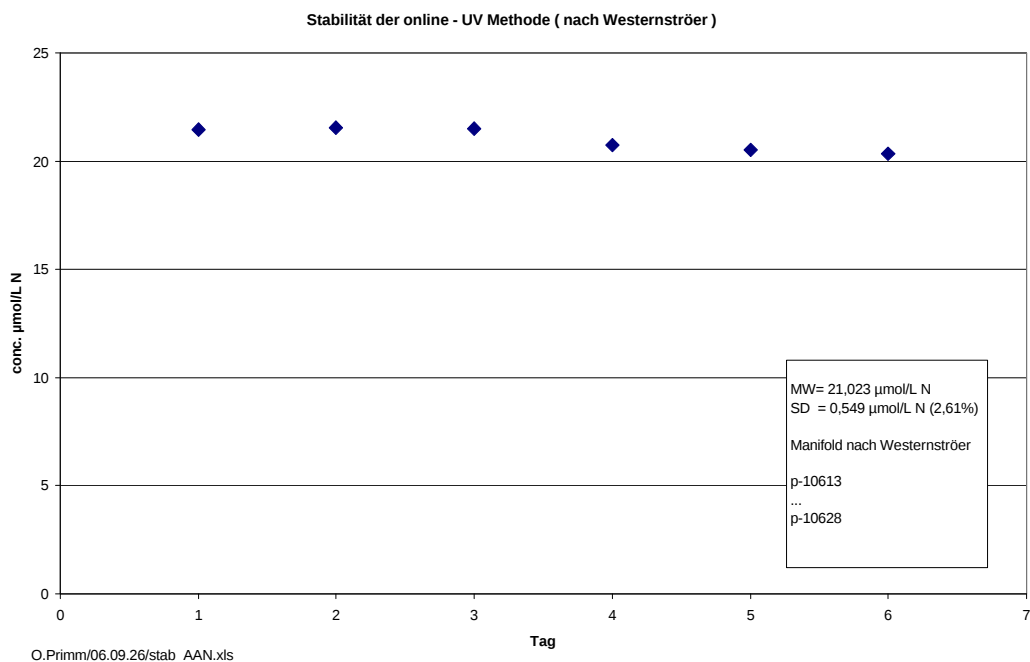


Abb. 19 : Bestimmung der Methodenstabilität für das online – UV Verfahren (Aufbau nach Westernströer).
Als Probe wurde stabilisiertes natürliches Seewasser verwendet. Jeder der angegebenen Messpunkte ist der Mittelwert aus 9 gemessenen Einzelproben.

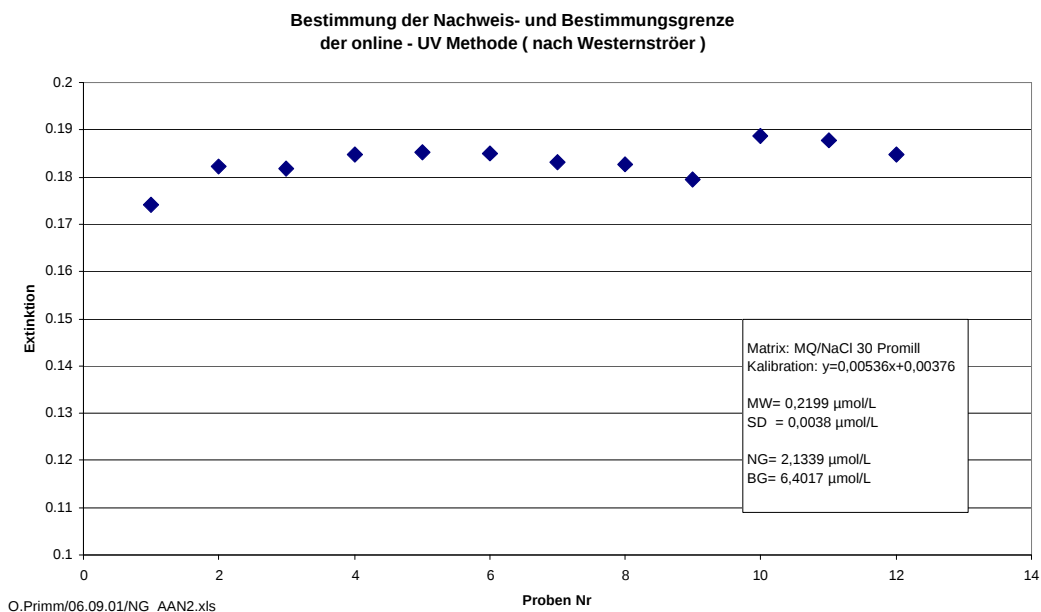
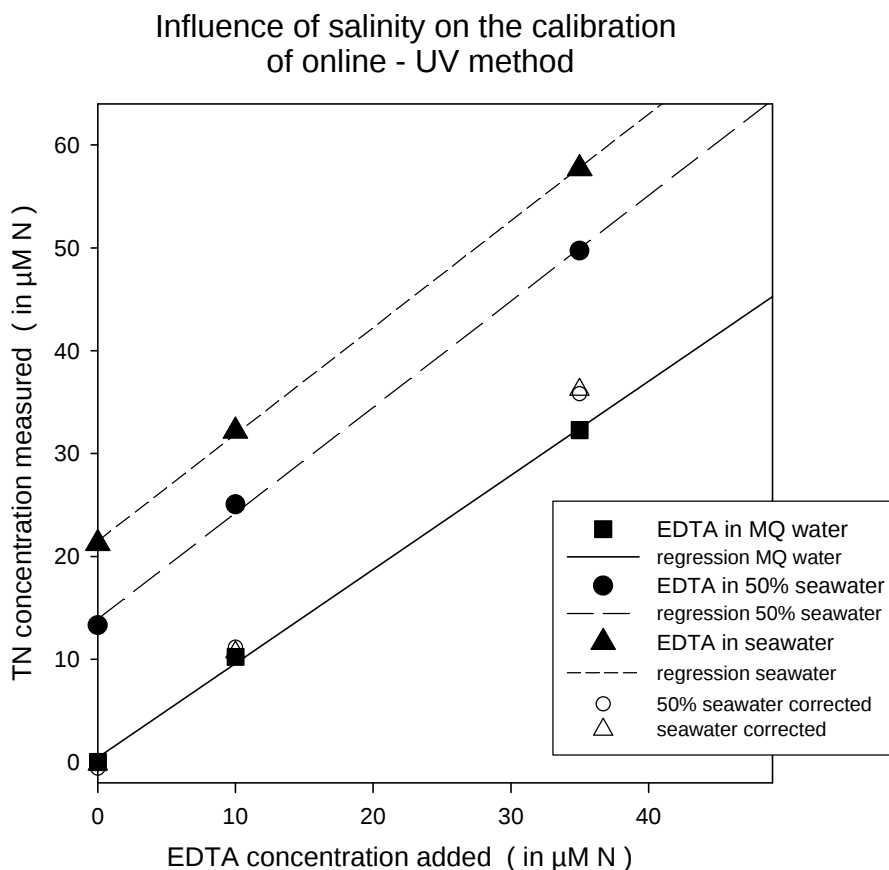


Abb. 20 : Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze mit Hilfe der Blindwertstreuung.



K. Nagel \ aan_sal \ 12/02

regression MQ	regression 50% seawater	regression seawater
Coefficients:	Coefficients:	Coefficients:
b[0] : 0.453	b[0] : 13.904	b[0] : 21.493
b[1] : 0.915	b[1] : 1.030	b[1] : 1.038
r ² : 0.9988	r ² : 0.9984	r ² : 0.9998

Abb. 21 : Abhängigkeit der Kalibrierung des online – UV Verfahrens vom Salzgehalt. Größere Volumina (100 ml) MQ – Wasser, einer Mischung aus gleichen Teilen von MQ – Wasser und einer natürlichen Seewasserprobe und der unverdünnten Seewasserprobe wurden jeweils mit einem geringen Volumen (150 µl bzw. 500 µl) eines hochkonzentrierten EDTA – Standards versetzt. Für die korrigierten Werte wurde von den Messwerten für 50% Seewasser bzw. Seewasser jeweils der aus der Regression ermittelte Hintergrundwert abgezogen. Jeder dargestellte Messwert stellt den Mittelwert aus drei Einzelmessungen dar. (Standard – Bedingungen nach Westernströer)

den zu untersuchenden Proben sehr ähnlich ist, dürfte es allerdings schwierig sein, die mit diesen Korrekturen verbundenen zusätzlichen Fehlerquellen auszuschließen.

Wie die Wiederfindungsraten einiger ausgewählter stickstoffhaltiger Verbindungen zeigen, werden diese Substanzen bis auf einzelne Ausnahmen recht gut aufgeschlossen und erfasst (Abb. 22).

Eine für dieses Verfahren offensichtlich 'schwierige' Verbindung ist dabei Harnstoff. Die Unterschätzung dieser Substanz ist auch bei anderen Vergleichen und bei Anwendung anderer Verfahren bereits aufgefallen (Sharp (2002c) (vergl. auch 6).

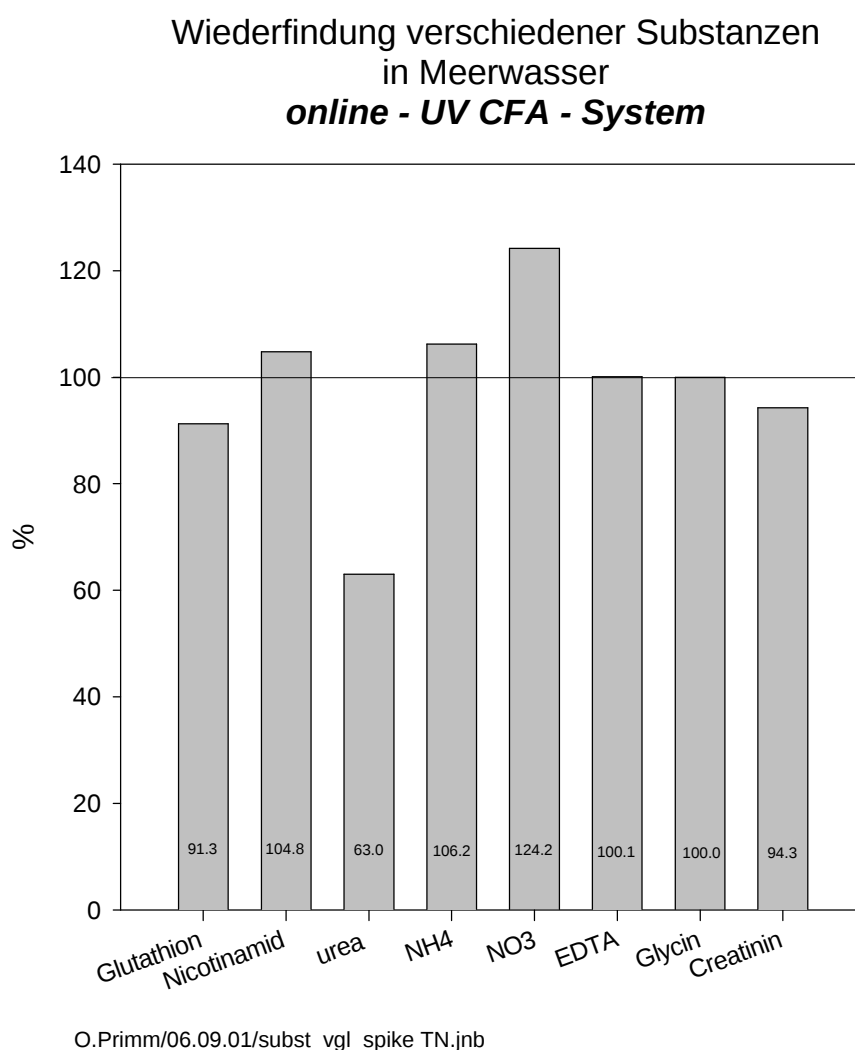


Abb. 22 : Wiederfindungsraten verschiedener reiner Substanzen, die in einer natürlichen Seewasserprobe gelöst waren. Die Werte sind bezogen auf eine Kalibrierung mit EDTA, das in MQ – Wasser gelöst war. Die Messungen erfolgten unter Standardbedingungen mit dem Manifold nach Westernströer.

5.4 Vergleich der HTC – Methode mit dem online – UV Verfahren

Vergleicht man die in Tab. 2 zusammengestellten Validierungsparameter der HTC – Methode bei Verwendung des CoCr Katalysators mit dem online – UV Verfahren in der von Westernströer beschriebenen Modifikation, so kann man feststellen, dass beide Methoden vergleichbar sind. Da zum Zeitpunkt der Durchführung der Messungen kein geeignetes natürliche Referenzmaterial zu Verfügung stand, werden keine Zahlenwerte zur Beschreibung der Richtigkeit bzw. Wiederfindung angegeben werden. Anhand der in 5.2.2. und 5.3.2 beschriebenen Messungen und den Ergebnissen der Vergleichsmessungen (vergl. hierzu auch 6) zeigen sich auch für diese Validierungsparameter vergleichbare Ergebnisse für die beiden untersuchten Methoden. Da bei beiden Methoden die zu untersuchenden filtrierten Proben ohne weitere Vorbehandlung direkt analysiert werden, soll auch auf eine Abschätzung der Methodenpräzision verzichtet werden.

Die Vorteile des online – UV Verfahrens bestehen darin, TN in einem Analysenlauf gleichzeitig mit den anorganischen Nährsalzen bestimmen zu können. Da bei vielen Feldexperimenten die Nährsalze unmittelbar nach der Probennahme an Bord von Forschungsschiffen bestimmt werden, würde eine gesonderte Abfüllung und Einlagerung der Proben zur TN Bestimmung entfallen. Außerdem lässt sich beim online – UV Verfahren die Effizienz und Konstanz der Aufschlussreaktion besser kontrollieren als bei entsprechenden Batch – Verfahren. Diese Vorteile werden jedoch dadurch relativiert, dass aufgrund des komplexen Reaktionsablaufes der TN – Bestimmung in diesem Kanal wesentlich häufiger Störungen auftreten als z.B. in den Kanälen zur Nährsalzbestimmung. Zur Erzielung akzeptabler Ergebnisse ist deshalb eine sehr strenge Kontrolle der einzelnen Reaktionsschritte auch während des Laufes zwingend erforderlich. Hinzu kommt, dass die Verweilzeit der TN - Probe im Analysator sehr lang ist im Vergleich zur Verweilzeit der Proben für die Nährsalze. Obwohl die Bestimmungen der zu erfassenden Einzelverbindungen auf jedem Manifold im Prinzip unabhängig von einander erfolgen – abgesehen von der Entnahme aus dem gleichen Probengefäß – können Probleme in dem am langsamsten laufenden Kanal häufig erst so spät erkennbar sein, dass von den 'schnelllaufenden' Kanälen bereits ein großer Teil der Proben den Analysenzyklus durchlaufen hat und ein Abbruch des Laufs deshalb zu einem Verlust der Messergebnisse führen kann. Die recht gute Übereinstimmung der Validierungsparameter für das online – UV Verfahren und die HTC – Methode sollte auch nicht darüber hinwegtäuschen, dass der Arbeitsaufwand recht erheblich ist, um derartige Werte sicherstellen zu können. Es ist nicht nicht getestet worden, ob dieses Verfahren auch unter erschwerten Bedingungen über einen längeren Zeitraum, z.B. während eines längeren Feldexperiments an Bord eines Forschungsschiffes, stabil und zuverlässig zu betreiben ist.

	HTC - Methode	online - UV Verfahren	
Nachweisgrenze ($\mu\text{M N}$)	2.34	2.13	
Bestimmungsgrenze ($\mu\text{M N}$)	7.02	6.40	
getesteter linearer Messbereich	5 – 220 $\mu\text{M N}$	5 – 50 $\mu\text{M N}$ 30 – 220 $\mu\text{M N}$ *)	*) geänderte Reagenzienzu- sammensetzung
Methodenstabilität			verschiedene Proben eingesetzt !
- Mittelwert ($\mu\text{M N}$)	19.76	21.02	
- relative SD (in %)	2.20	2.61	
Messpräzision			
- Konz. Probe ($\mu\text{M N}$)	19.717	20.92	verschiedene Proben eingesetzt !
- rel. SD _w (in %)	7.60	2.58	
- rel. SD _b (in %)	1.97	2.37	
- rel. SD _t (in %)	7.85	3.51	

Tab. 2 : Vergleich der HTC – Methode und des online - UV Verfahrens anhand wichtiger Validierungsparameter
Zur Bestimmung der Validierungsparameter vergl. auch 5.2.2 und 5.3.2 sowie Wellnitz et al. (1999).
Zur Bestimmung der Methodenstabilität und der Messpräzision wurden jeweils unterschiedliche stabilisierte natürliche Seewasserproben eingesetzt.
(SD : Standardabweichung ; SD_w : Standardabweichung in einer Tagesserie ; SD_b : Standardabweichung zwischen den an verschiedenen Tagen durchgeführten Serien ; SD_t : Gesamt – Standardabweichung)

Gegenüber dem online – UV Verfahren gestattet die HTC – Methode unter Verwendung des CoCr Katalysators nur die Erfassung von TN. Für die Bestimmung nach diesem Verfahren muss deshalb eine gesonderte Probe abgefüllt werden. Die Durchführung der Analyse ist jedoch im Vergleich zum online – UV Verfahrens sehr einfach und wenig arbeitsintensiv. Die (filtrierte) Probe wird direkt und ohne weitere Vorbehandlung in die Probenvials des Analysators überführt. Die Durchführung und Kontrolle der Messung erfolgt in der Regel automatisch über einen Rechner, der die einzelnen

Abläufe koordiniert und die Datenerfassung und erste Auswertung übernimmt. Bei regelmäßiger und ordnungsgemäßer Wartung des Analysators arbeitet das Verfahren sehr stabil und zuverlässig. Da die Werte wiederholter Einzelbestimmungen derselben Probe eine vergleichsweise hohe Standardabweichung besitzen, sollte eine relative große Zahl von Einzelbestimmungen vorgenommen werden, um zuverlässige Werte für die TN – Konzentration zu erhalten. Angesichts des geringen Probenvolumens, das für eine Einzelbestimmung erforderlich ist, und des automatisierten Analysenablaufes ist Durchführung einer größeren Zahl von Einzelbestimmungen jedoch unproblematisch.

Um mit der HTC – Methode auch den DOC (TOC) – Gehalt erfassen zu können, sind säurebeständige Katalysatoren erforderlich. Da sich für die DOC Analytik Pt – Katalysatoren weitgehend als Standard etabliert haben, würde es sich anbieten, diesen Katalysator auch für die TN – Analytik einzusetzen. Mit dem im Rahmen dieses Projekts getesteten Pt – Katalysator (Shimadzu P/N 017-42801) konnten allerdings keine befriedigenden Ergebnisse erzielt werden. Seit Herbst 2001 konnte durch den Einsatz eines anderen Pt – Katalysators (Shimadzu P/N 638-60116) und die Durchführung der Analytik mit einem anderen Gerätesystem (Hybridsystem, bestehend aus einem Shimadzu TOC5000 mit nachgeschaltetem Skalar ND10 Detektor) auch eine gleichzeitige Erfassung von DOC und DN bewerkstelligt werden. Daten zur Charakterisierung dieses Hybridsystems sollen im Rahmen des Projekts nicht gegeben werden, da noch nicht alle Möglichkeiten zur Verbesserung des Verfahrens realisiert und abschließend getestet sind. Bei der Teilnahme an ersten Vergleichsmessungen hat es sich jedoch gezeigt, dass dieses mit einem Pt Katalysator arbeitende System dem mit einem CoCr Katalysator ausgerüsteten Analysator vergleichbar ist (vergl. auch 6).

6 Einsatz der untersuchten Verfahren bei Vergleichsmessungen

Die im Rahmen dieses Projekts validierten Methoden sind kurz vor oder während der Projektlaufzeit bei verschiedenen nationalen und internationalen Vergleichsmessungen eingesetzt worden. Die Ergebnisse dieser Interkalibrationen sollen hier kurz dargestellt werden. Darüber hinaus fand im Rahmen dieses Projekts ein Ringversuch statt, bei dem sich die Methoden ebenfalls zu bewähren hatten.

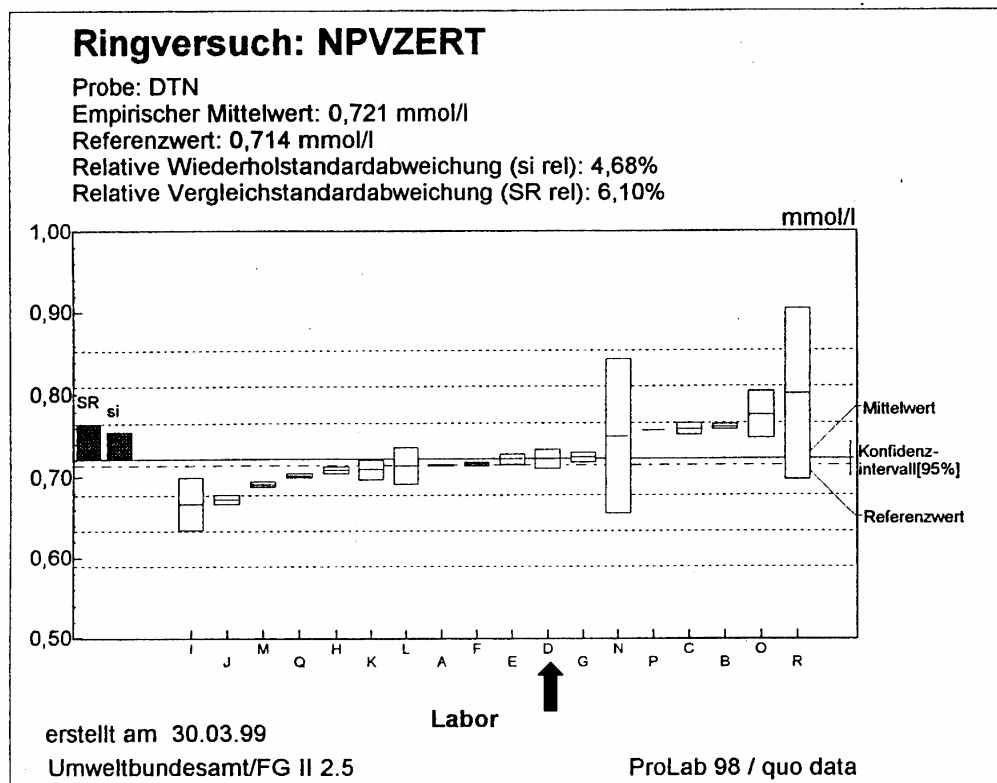
Zur Durchführung der TN Bestimmung mit der HTC – Methode stand seit 1997 ein TN – Analysator zur Verfügung, der im Laufe der Zeit in einigen Komponenten technisch entscheidend verbessert wurde. Das online – UV Verfahren wurde demgegenüber nur im Rahmen dieses Projekts eingesetzt.

Die erste Vergleichsmessung, bei dem die HTC – Methode eingesetzt wurde, war ein vom Umweltbundesamt FG II 2.5 im Jahr 1999 organisierter Ringversuch, bei dem Qualitätskontrollmaterial zur Bestimmung von DTN, DTP und DOC zertifiziert werden sollte. Die damals erzielten Ergebnisse sind in Abb. 23 gezeigt und durch einen Pfeil markiert (Labor 'D'). Es fällt auf, dass der eingereichte Messwert zwar richtig ist, die Abweichungen zwischen den Einzelmessungen, aus denen dieser Wert gemittelt wird, jedoch deutlich größere Schwankungen aufweisen als die, die bei anderen Teilnehmern beobachtet werden. Die großen Schwankungen sind darauf zurückzuführen, dass die damals verwendete Version des TN – Detektors sehr

Umweltbundesamt, FG II 2.5

DTN/DTP/DOC-Ringversuch

Anhang 5



(aus Woitke et al. (1999))

Abb. 23 : Ergebnisse einer Vergleichsmessung, die 1999 von P. Woitke et al, Umweltbundesamt, FGII 2.5 organisiert wurde. Die nach der HTC – Methode mit Hilfe eines SKALAR – Analysators erzielten Werte sind durch einen Pfeil gekennzeichnet (Konzentrationen in mM N)

empfindlich auf äußere Störungen reagierte (z.B. auf Störungen durch das Einschalten anderer elektrischer Geräte). Diese Probleme konnten zum Teil durch elektronische Maßnahmen und durch Modifikationen der Datenerfassung und -auswertung verringert werden. Die Empfindlichkeit gegenüber äußeren Störungen – neben elektrischen bzw. elektronischen Störungen durch andere Geräte zählen hierzu auch Temperaturprobleme, insbesondere in der warmen Jahreszeit – ist auch derzeit noch nicht in ausreichendem Maße beseitigt. Weitere Verbesserungsmöglichkeiten, die grundlegend in die Konstruktion des Detektors eingreifen, werden derzeit von der Herstellerfirma geprüft.

Diese Vergleichsmessung war insofern recht unproblematisch, weil einerseits die Konzentration einer reinen, in Wasser gelösten Substanz zu bestimmen war, andererseits eine konzentrierte Probenlösung verschickt wurde, die auf einen für die Durchführung der Messungen optimalen Konzentrationsbereich verdünnt werden konnte. Probleme, die sich aus Matrixeffekten ergeben können, waren daher nicht zu erwarten. Da das Gerät routinemäßig mit EDTA geeicht wird und es sich bei der zu untersuchenden Probe ebenfalls um eine EDTA Lösung handelte, fand hier letztlich nur eine Kontrolle der Kalibrierung statt.

In einer zweiten Vergleichsmessung, die im Jahr 2000 von J. H. Sharp, University of Delaware, College of Marine Studies, Lewes, DE, USA, organisiert wurde, waren 5 Seewasserproben (CSW, SBW, DSS, CPN, FHW) zu analysieren, deren DN – Gehalte zwischen 7 $\mu\text{M N}$ und 25 $\mu\text{M N}$ lagen. Dabei unterschieden sich die Proben sowohl in den Konzentrationen der anorganischen Nährsalze als auch im DOC – Gehalt. Die Ergebnisse dieser Vergleichsmessung sind inzwischen publiziert (Sharp et al (2002b)).

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse ist in Abb. 24 gezeigt, wobei die mit der HTC – Methode (SKALAR FORMACS^{HT} TOC Analyzer / SKALAR ND10 Detektor, CoCr Katalysator) erzielten Ergebnisse grau unterlegt sind (Labor 14).

Wichtige Ergebnisse dieser Vergleichsmessung bestanden darin, dass die HTC – Methoden tendenziell niedrigere Werte ergaben als die Persulfat – oder UV – Aufschlüsse. Dabei waren die Streuungen innerhalb der Gruppe der HTC – Methoden geringer als diejenigen der anderen beiden Methoden. Die höchsten Abweichungen ergaben sich innerhalb der Gruppe der Teilnehmer, die UV – Methoden zur Durchführung der Analysen benutzt hatten.

Auf Basis dieser Vergleichsmessungen wurde eine Reihe von Teilnehmern, die HTC – Methoden zur DN – Bestimmung eingesetzt hatten, vom 10. bis 21. September 2001 zu einem direkten Methodenvergleich in das College of Marine Studies der University of Delaware in Lewes, DE, USA, eingeladen. Dabei hatte jeder Teilnehmer das von ihm verwendete Analysensystem mitzubringen. Ziel dieses Treffens war es dazu beizutragen, die Abweichungen zwischen den einzelnen TN – Analysatoren durch direkte Vergleichsmessungen in einem Labor unter gleichen

äußeren Bedingungen weiter zu minimieren, und dadurch eine bessere 'community performance' zu erreichen.

Bei dieser Vergleichsmessung wurde die im Rahmen dieses Projekts verwendete HTC – Methode eingesetzt. Die Teilnahme wurde dabei sowohl aus Projektmitteln als auch durch die Firma SKALAR unterstützt, die für die Dauer der Messungen ein für die USA produziertes Gerät vor Ort zur Verfügung stellte. Dieses Gerät war vor der Auslieferung so modifiziert worden, dass es in seinem Aufbau dem im IOW verwendeten System entsprach, jedoch bereits die technischen Verbesserungen enthielt, die zum damaligen Zeitpunkt zum Standard gehörten.

Es war geplant, während der Vergleichsmessungen sowohl die Wiederfindungsraten ausgewählter reiner Stoffe zu untersuchen als auch auf einer kurzen Seereise eine Reihe natürlicher Seewasserproben zu nehmen und sofort nach der Rückkehr im Labor zu untersuchen. Da aufgrund äußerer Umstände die Seereise nicht stattfinden konnte, wurden die Seewasserproben zu einem späteren Zeitpunkt genommen und den Teilnehmern zugeschickt.

Erste Ergebnisse der Vergleichsmessungen in Lewes wurden auf dem AGU Oceans Science Meeting 2002 vorgestellt (Sharp et al (2002c)). Eine ausführlichere Darstellung dieser Ergebnisse zusammen mit denen der Analysen der Seewasserproben in den Laboratorien der einzelnen Teilnehmer ist in Vorbereitung (Sharp et al (2003)).

Bei den direkten Vergleichsmessungen in Lewes wurden im wesentlichen zwei Gruppen von Proben untersucht. Die eine Gruppe bestand aus 5 ausgewählten reinen Stoffen (EDTA, Ammonium, Harnstoff, Nitrit und Acetanilid), die jeweils in einer Konzentration von 10 µM N in reinem Wasser (Milli-Q+ Wasser) gelöst wurden. Als Standard zum Eichen des Systems wurde von allen Teilnehmern der gleiche KNO₃ Standard verwendet. Es wurde vereinbart, zur Ermittlung der Konzentrationen jeweils 5 Einzelmessungen durchzuführen und die automatische Durchführung von Zusatzmessungen zur Verringerung der Standardabweichung innerhalb der Probe nicht zuzulassen.

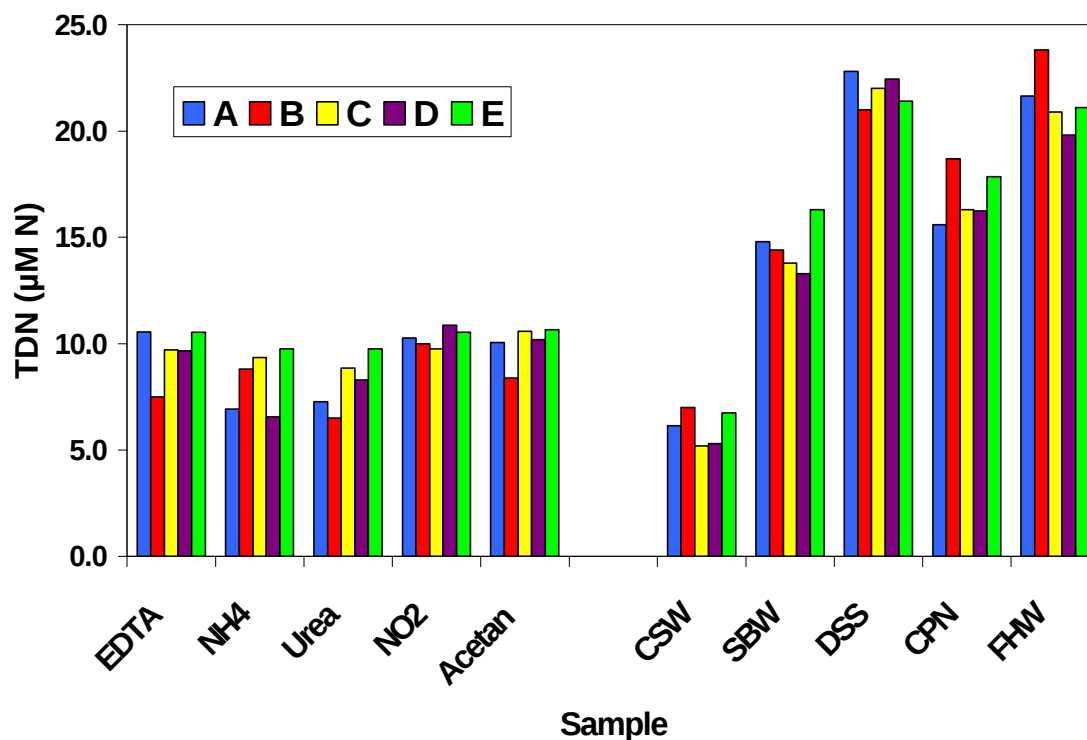
Die Ergebnisse der Vergleichsmessungen, die im Labor in Lewes durchgeführt wurden, sind in Abb. 25 gezeigt. Die Säulen A bis D stellen jeweils die Resultate dar, die nach der HTC - Methode mit vier verschiedenen TN – Analysatoren erhalten wurden, wobei die mit dem SKALAR – System erhaltenen Werte in der Säule D angegeben sind. Die Säule E zeigt jeweils das Ergebnis einer Bestimmung nach einem Aufschluss mit Persulfat nach einem von Solórzano und Sharp beschriebenen Verfahren (Solórzano & Sharp (1980)).

Bei den Messungen der reinen Stoffe zeigte es sich, dass Harnstoff und Ammonium Verbindungen sind, deren Analyse bei Verwendung von TN – Analysatoren, die auf der Basis der HTC – Methode arbeiten, einige Schwierigkeiten bereitet. Auf eine ausführlichere Diskussion soll an dieser Stelle verzichtet werden, weil es auf der Grundlage der Messungen in Lewes noch einige Veränderungen

Nbr.	Method	CSW	SBW	DSS	CPN	FHW
1	PO	5.7	16.0	22.7	17.6	21.7
2	UV	8.2	16.5	24.3	19.8	22.4
3	PO	8.0	16.5	24.7	19.9	23.1
4	HTC	6.7	14.2	25.1	18.1	22.4
5	PO	8.2	17.7	25.8	19.2	24.2
6	HTC	6.5	14.9	20.7	17.0	22.4
7	PO	6.4	14.8	22.2	17.3	21.1
8	HTC	5.9	15.6	22.8	17.8	23.4
9	PO	7.8	18.8	28.2	21.9	27.4
10	UV	6.6	15.2	23.7	18.8	22.3
11	PO	14.2	22.2	37.9	29.9	42.5
12	HTC	6.8	15.8	23.9	18.1	22.7
13	UV	6.6	17.8	26.9	18.4	25.0
14	HTC	6.3	15.2	23.3	16.7	21.0
15	HTC	6.3	13.4	20.3	19.7	20.8
16	HTC	6.1	14.4	22.3	17.0	21.6
17	UV	6.7	16.4	24.2	18.9	24.0
18	PO	3.3	11.9	20.1	14.8	19.1
19	PO	6.5	15.9	25.0	19.2	24.1
20	PO	7.1	15.9	24.5	18.1	23.0
21	PO	6.3	15.4	23.4	17.2	21.9
22	PO	7.3	15.1	23.0	18.4	22.7
23	UV	15.2	14.7	26.4	16.1	16.4
24	HTC	6.9	14.7	23.3	18.6	29.1
25	UV	7.4	16.2	25.0	19.9	24.9
26	HTC	6.5	13.8	21.7	16.2	19.8
27	UV	5.2	21.0	27.8	18.6	14.9
28	PO	9.3	15.6	24.5	18.6	21.7
29	PO	5.1	14.9	23.0	18.0	21.5
Mean		7.21	15.88	24.37	18.61	23.00
sd		2.35	2.09	3.28	2.59	4.65
%cv		32.7	13.1	13.5	13.9	20.2
Mean*		6.96	15.65	23.89	18.21	22.31
sd*		1.97	1.73	2.05	1.43	2.80
%cv*		28.3	11.0	8.6	7.9	12.6

(Kopie aus Sharp et al (2002b))

Abb. 24 : Kopie der Ergebnistabelle einer DN Vergleichsmessung, die 2000 von J. H. Sharp, University of Delaware, College of Marine Studies, Lewes, DE, USA organisiert wurde. Die fett gedruckten Werte sind als Ausreißer später eliminiert worden. Die Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen ohne Berücksichtigung der fett gedruckten Werte ist mit * gekennzeichnet. Konzentrationsangaben in $\mu\text{M N}$. Die mit dem HTC – Verfahren (SKALAR FORMACS^{HT} TOC Analyzer/ SKALAR ND10 Detektor; CoCr Katalysator) erzielten Werte sind grau unterlegt.
(PO : Peroxodisulfat – Aufschluss ; UV – UV – Aufschluss ; HTC : HTC - Verfahren).



(Kopie aus Sharp et al (2002c))

Abb. 25 : Ergebnisse der Vergleichsmessungen, die im College of Marine Studies, University of Delaware, Lewes, DE, USA im September 2001 durchgeführt wurden. Für diese Messungen wurde ein SKALAR FORMACS^{HT} TOC Analyzer eingesetzt, der von der Firma SKALAR für diese Messungen zur Verfügung gestellt worden war. (Acetan :Acetanilid ; zur Bezeichnung der natürlichen Proben CSW, SBW, DSS, CPN, FHW vergl. Sharp (2002b))

in den Verfahrensvorschriften für die einzelnen Analysatoren gegeben hat, die später zu Verbesserungen geführt haben.

Bei den Vergleichsmessungen in Lewes sind darüber hinaus 5 natürliche Seewasserproben untersucht worden (CSW, SBW, DSS, CPN, FHW). Diese Proben waren Restbestände des Probenmaterials, das im Jahr 2000 für den zuvor erwähnten Ringversuch versandt worden war. Die Messergebnisse zeigen einige Abweichungen, die jedoch weitgehend unsystematisch verteilt sind. Die Resultate sind jedoch gleichzeitig ein Hinweis auf die Stabilität der Ringversuchsproben, die über viele Monate bei Raumtemperatur gelagert worden waren.

Die zweite Probenserie, deren Untersuchung geplant war, bestand aus 14 natürlichen Seewasserproben, deren Salzgehaltsbereich zwischen 15 ‰ und 35 ‰ lag. Die TN – Konzentrationen in den Proben lagen zwischen 5 µM N und über 80 µM N. Da diese Bestimmungen in den Laboratorien der einzelnen Teilnehmer erfolgten, wurden zur Untersuchung sowohl die HTC – Methode mit dem SKALAR TN – Analysator (Spalte F in Abb. 26) als auch das online – UV Verfahren (Spalte L in Abb. 26) eingesetzt. Darüber hinaus wurde auch ein Hybridsystem getestet, bei dem ein Shimadzu TOC5000 mit einem SKALAR ND10 Detektor gekoppelt war (Spalte E in Abb. 26). Die zusammengefassten Ergebnisse dieses Ringversuchs sind in Abb. 26 dargestellt, die von Sharp et al (2003) übernommen wurde. Da der Schwerpunkt in dieser Publikation auf dem Vergleich der HTC – Methoden liegt, sind die Ergebnisse anderer Verfahren (mit einer Ausnahme) nicht aufgeführt. Die Tabelle ist deshalb um die mit dem online – UV Verfahren gemessenen Werte ergänzt worden. Die Werte sind jedoch nicht in der statistischen Auswertung berücksichtigt.

Es soll an dieser Stelle auch darauf hingewiesen werden, dass zur Kontrolle der Analysenläufe nach dem HTC – Verfahren von den Teilnehmern natürliches Referenzmaterial mit einem DN – Gehalt von 21 µM N bis 23 µM N eingesetzt wurde (DSW in Abb. 26).

Die Ergebnisse zeigen, dass der SKALAR – Analysator für alle Proben etwas höhere Werte liefert als die anderen HTC – Analysatoren. Bei dem verwendeten Hybridsystem zeigen drei Werte eine so deutliche Abweichung von den berechneten Mittelwerten, dass sie für die weiteren Berechnungen eliminiert wurden. Es muss sich in einer weiteren Vergleichsmessung zeigen, ob die Ursachen für diese Abweichungen durch technische Veränderungen an der Kopplungsstelle inzwischen behoben werden konnten. Allgemein lässt sich jedoch feststellen, dass alle drei Methoden akzeptable Werte bei der Untersuchung natürlicher Proben liefern.

Der als Bestandteil dieses Projekts organisierte Ringversuch ist eine weitere Vergleichsmessung, bei der die im Rahmen dieses Projekts untersuchte HTC – Methode auf Basis des SKALAR TN – Analysators sowie das online – UV Verfahren eingesetzt wurden. Zusätzlich wurde bei dieser Vergleichsmessung auch das Hybrid – System eingesetzt. Die Ergebnisse dieses Ringversuchs sind in einem gesonderten Report zusammengefasst, der als Anhang A4 diesem Bericht beigelegt ist (in englischer Sprache). Die in diesem Bericht den einzelnen Methoden zugeordneten Laborcodes sind 30 für das online – UV Verfahren, 31 für die HTC – Methode auf Basis des SKALAR FORMACS^{HT} TOC Analyzer / SKALAR ND10 Detektor (Katalysator CoCr, Standardbedingungen) und 32 für die HTC – Methode mit dem Hybrid – Analysator (Shimadzu TOC5000 / SKALAR ND10 Detektor).

Auffallend an den Ergebnissen ist das schlechte Abschneiden des SKALAR – Analysators bei Probe B und - etwas weniger deutlich – bei Probe C. Die Schwierigkeiten bei der Probe B waren insofern zu erwarten, als diese Probe einen sehr hohen Ammoniumgehalt besaß und diese

Verbindung auch zuvor schon mit schlechten Ergebnissen aufgefallen war (z.B. Abb. 25). Die anderen Messwerte sind unauffällig. Eine Ursache für die schlechten Wert des TN – Analysators ist die immer noch unzureichende Stabilität des ND10 Detektors, die zu relativ stark streuenden Messwerten führt. Eine Verbesserung ist hier nur durch weitere technische Änderungen am Detektor möglich, die inzwischen von der Herstellerfirma in Angriff genommen worden sind. Bemerkenswert ist jedoch, dass der gleiche Detektor deutlich bessere Resultate liefert, wenn er an ein Shimadzu TOC5000 – System gekoppelt wird. Dies deutet darauf hin, dass auch im Reaktorteil des SKALAR TN – Analysators noch Verbesserungsmöglichkeiten erwartet werden können.

Comparative TDN data from DON comparison II - natural seawater samples										
Station	A	B	C	D	E	F	H	J	K	L
20	78.0	75.9	84.2	85.4	85.8	94.1	94.3		88.4	82.7
22	52.5	51	56.3	58.2	57.2	62.3	61.3		62.3	57.1
24	28.9	29.2	32.1	31.1	29.5	31.7	31.3		33.3	27.2
26	20.3	21.4	23.2	21.3	21.2	23.7	19.9		24.6	18.2
51	7.2	7.07	7.6	6.91	8.7	8	4.6		9.9	
53	6.7	6.42	6.75	5.88	6.8	8	5.2		8.0	
54	5.8	5.34	5.67	5.04	6.3	6.8	3		6.8	1.9
55-10	5.2	5.1	5.16	4.6	6.6	6.1	3	5.2	6.4	2.2
55-45	6.2	5.82	6.24	5.23	6	6.4	3.3	4.5	7.1	2.5
55-100	15.1	14.1	14.8	15.4	16.8	16.3	15.6	12.9	18.1	13.2
55-250	25.3	25.7	24.8	26.8	30.5	27.6	25.1	25.2	28.7	25.3
55-500	22.4	22.5	22.2	23.8	25.7	24.7	25.2	21.2	25.8	21.0
55-800	19.5	20.1	19.2	21.1	23.1	21.3	20.9	18.6	23.3	20.6
55-190	18.2	19.5	18.7	20.5	20.4	20.9	20.2	19.6	23.0	15.2
LCW		0.02	0.1							
DSW		19.1	20.1	20.9	22.2	22.9				
Average of all HTC										
	Mean	SD	% CV		Average of Shimadzu-hybrid instruments only					
20	85.38	7.09	8.31		81.85	4.59	5.60			
22	56.98	4.17	7.33		55.05	3.12	5.66		E : Shimadzu / Skalar	
24	30.54	1.31	4.29		30.16	1.38	4.58			
26	21.58	1.40	6.48		21.49	1.04	4.86		F : Skalar / Skalar	
51	6.89	1.19	17.28		7.18	0.30	4.11			
53	6.53	0.87	13.27		6.51	0.38	5.82			
54	5.42	1.22	22.44		5.62	0.47	8.44		L : online UV method	
55-10	4.91	0.95	19.38		5.02	0.28	5.66			
55-45	5.45	1.08	19.78		5.89	0.41	6.88			
55-100	15.13	1.23	8.15		15.24	1.00	6.53			
55-250	25.79	1.02	3.97		25.66	0.84	3.29			
55-500	23.46	1.63	6.95		23.32	1.48	6.33			
55-800	20.47	1.44	7.02		20.61	1.57	7.60			
55-190	19.75	0.94	4.74		19.46	1.02	5.24			
LCW			10.67				5.76			
DSW		assigned value : 21 - 23								

Abb. 26 : Ergebnisse der DON intercalibration II – natural seawater samples vom Herbst 2001
Die Vergleichsmessung wurde organisiert und ausgewertet von J. H. Sharp, University of Delaware, College of Marine Studies, Lewes, Delaware, USA.
(modified from Sharp et al. 2003 (submitted))

7 Ausblick

Die Ergebnisse der Untersuchungen sowohl in diesem Projekt, einschließlich des im Rahmen des Projekts organisierten Ringversuches, als auch die Ergebnisse nationaler und internationaler Vergleichsmessungen der letzten Jahre zeigen, dass die derzeit am häufigsten eingesetzten Methoden zur Bestimmung des TN (DN) – Gehalts in aquatischen Proben im wesentlichen die gleichen Ergebnisse liefern. Die Schwankungen der Messwerte verschiedener Laboratorien, die die gleiche Methode zur Durchführung der Analyse anwenden, sind meist größer als die Schwankungen, die methodische Ursachen haben. Die scheinbare Überlegenheit einer Methode ist oft durch die Zusammensetzung der Teilnehmer an der Vergleichsmessung bedingt und so kann es durch den Einschluss oder Ausschluss weiterer Teilnehmer zu deutlich anderen Bewertungen kommen. Aufgrund der relativ großen Schwankungsbreite der von verschiedenen Laboratorien ermittelten Werte ist die Qualität der Messungen zur Beantwortung einiger Fragestellungen insgesamt noch nicht ausreichend.

Um hier zu einer Verbesserung zu kommen, sollten verstärkt Möglichkeiten genutzt werden, Referenzmaterialien in die Untersuchungen einzubeziehen. Dabei ist es von großer Bedeutung, dass die Referenzmaterialien in ihren Eigenschaften (Matrix) den zu untersuchenden Proben weitestgehend entsprechen. Der Einsatz synthetischer Referenzmaterialien kann in einigen Fällen zu Fehleinschätzungen führen (Aminot & Kérouel (2001)).

Faktoren, die in der Vergangenheit einem weiter verbreiteten Einsatz von geeigneten Referenzmaterialien in Wege standen, waren die mangelhafte Verfügbarkeit oder ein unerschwinglicher Preis.

Um in Zukunft zu einer besseren Vergleichbarkeit von TN – Bestimmungen im Rahmen von Monitoring - Programmen oder von großen Experimenten mit Beteiligung vieler Laboratorien zu kommen, sollte deshalb neben der regelmäßigen Durchführung von Vergleichsmessungen und einer intensiveren Diskussion unter den Teilnehmern über mögliche Ursachen von Unterschieden und möglichen Optimierungen auch die Klärung der Frage zur Beschaffung von geeignetem Referenzmaterial zu akzeptablen Bedingungen stehen.

8 Literaturverzeichnis

- Armstrong, F.A.J., Williams, P.M., Strickland, J.D.H. (1966); Photo – oxidation of organic matter in seawater by ultraviolet radiation, analytical and other applications. *Nature* 211: 481 – 483
- Álvarez-Salgado, X A, Miller, A E J (1998); Simultaneous determination of dissolved organic carbon and total dissolved nitrogen in seawater by high temperature catalytic oxidation: conditions for precise shipboard measurements; *Mar. Chem.* 62: 325 – 333
- Aminot, A. and Kérouel, R. (2001); An automated photo-oxidation method for the determination of dissolved organic phosphorus in marine and fresh water; *Mar. Chem.* 76: 113 - 126
- Brockmann, U.H., Kattner, G. (1997); Winter – to – summer changes of nutrients, dissolved and particulate organic material in the North Sea; *Dt. Hydr. Z.* 49: 229 - 242
- Cauwet, G. (1999); Determination of dissolved organic carbon and nitrogen by high temperature combustion; in: K. Grasshoff, K. Kremling, M. Erhardt; *Methods of seawater analysis*; Wiley – VCH Weinheim (1999); pp 407 - 420
- Collos, Y, Mornet, F (1993); Automated procedure for determination of dissolved organic nitrogen and phosphorus in aquatic environments; *Mar. Biol.* 116: 685 - 688
- Hansell, D A (1993); Results and observations from the measurement of DOC and DON in seawater using a high-temperature catalytic oxidation technique; *Mar. Chem.* 41: 195 – 202
- Hansell, D. A. (2001); The good, the bad and the ugly: Are my DOC results any good? *U.S. JGOFS Newsletter* 11(2): 14 - 15
- Hedges, J.I, Lee, C. (eds) (1993); *Mar. Chem.* 41: (Sonderband)
- Kjeldahl, J (1883); Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen K  rper; *Z. Anal. Chem.* 22: 366 - 382
- Koroleff, F (1983); Total organic nitrogen; in : K. Grasshoff, M. Erhardt, K. Kremling (eds.); *Methods in seawater analysis*; Verlag Chemie 1983; pp 162 - 173

- Sharp, J H, Carlson, C A, Peltzer, E T, Castle-Ward, D M, Savidge, K B, Rinker, K R (2002a); Final dissolved organic carbon broad community intercalibration and preliminary use of DOC reference materials; Mar. Chem. 77: 239 - 253
- Sharp, J H, Rinker, K R, Savidge, K B, Abell, J, Benaim, J Y, Bronk, D, Burdige, D J, Cauwet, G, Chen, W, Doval, M D, Hansell, D, Hopkinson, C, Kattner, G, Kaumeyer, N, McGlathery, K J, Merriam, J, Morley, N, Nagel, K, Ogawa, H, Pollard, C, Pujo-Pay, M, Raimbault, P, Sambrotto, R, Seitzinger, S, Spyres, G, Tirendi, F, Walsh, T W, Wong, C S (2002b); A preliminary methods comparison for measurement of dissolved organic nitrogen in seawater; Mar. Chem. 78: 171 – 184
- Sharp, J.H., Beauregard, A., Curless, S., Parker, A., Cauwet, G., Pujo-Pay, M., Nagel, K., Primm, O., Ogawa, H., Burdige, D., Gardner, K., Seitzinger, S. Lauck, R. and Styles, R (2002c); A high temperature combustion instrument comparison measurement of dissolved organic nitrogen in seawater; Poster AGU Ocean Science Meeting 2002, Honolulu, Hawaii (11 – 15/02/2002)
- Sharp, J.H. (2002d); Analytical methods for total DOM pools; in : D. A. Hansell and Carlson, C. A.; Biogeochemistry of dissolved organic matter; Academic Press (2002), pp 35 - 58
- Sharp, J.H., Beauregard, A.Y., Burdige, D., Cauwet, G., Curless, S., Lauck, R., Nagel, K., Ogawa, H., Parker, A.E., Primm, O., Pujo-Pay, M., Savidge, W.S., Seitzinger, S., Spyres, G., Styles, R. (2003); A direct instrument comparison for measurement of total dissolved nitrogen in seawater; (submitted)
- SKALAR (1994); Total (UV) nitrogen & total (UV) phosphate analysis; SKALAR publication no. 01022010A.US , Skalar Analytical B.V., 4800 DE Breda, The Netherlands
- Solórzano, L. and Sharp, J. H. (1980); Determination of total dissolved nitrogen in natural waters; Limnol. Oceanogr. 25: 751 - 754
- Suzuki, Y, Sugimura, Y, Itoh, T (1985); A catalytic oxidation method for the determination of total nitrogen dissolved in seawater; Mar. Chem. 16: 83 – 97

- Wangersky, P.J. (2000); Intercomparisons and intercalibrations; in : Wangersky (ed) Marine chemistry (Volume 5 part D of : The handbook of environmental chemistry); Springer Verlag Berlin, Heidelberg (2000); pp. 167 - 191
- Westernströer, U. (1999); Bestimmung von gelöstem organischen Stickstoff im Meer nach einem UV-Aufschlussverfahren. Optimierung und Vergleich mit anderen Methoden.
Diplomarbeit, Fachbereich Chemieingenieurwesen der Fachhochschule Münster, Abteilung Steinfurt
- Wellmitz, J., Harms, U., Schöneborn, C. (1999); AG 'Qualitätssicherung' Bund/Länder – Messprogramm Nord- und Ostsee. Leitlinie zur Methodenvvalidierung; Umweltbundesamt Berlin
- Woitke, P, Keune, H, Wellmitz, J (1999); Abschlussbericht : Ringversuch zur Zertifizierung eines Qualitätskontrollmaterials DTN, DTP, DOC; Umweltbundesamt Berlin, FG II 2.5 / Labor für Wasseranalytik

9 Anhänge

Anhang A1 : (Legende nächste Seite)

Eichungen				
Analysenparameter		NOx	NH4	TN
AnalysenID	201	µg/L	µg/L	µg/L
Anfangsbasislinie		1.49619733	-0.48836982	-0.60221423
Tracer		17.5873299	21.0368004	40.0345542
Waschen		1.49619733	-0.48836982	-0.60221423
NH4_10		1.48466835	10.0008172	11.5862007
NH4_10		1.49174921	10.3615625	12.0015545
NH4_10		1.5006658	10.2424136	11.9263693
NH4_10		1.50248555	9.95777766	9.94802382
Wasch (ignorieren)		1.47811414	-0.50588331	0.43040228
Drift		19.100735	21.1536649	40.8530329
Waschen		1.49619733	-0.48836982	-0.60221423
NH4_35		1.502577	33.692663	36.4806298
NH4_35		1.5199508	33.9700781	37.5586654
NH4_35		1.49956944	33.351972	37.5746391
NH4_35		1.50245187	33.4110858	33.7527993
Wasch (ignorieren)		1.48100942	-0.46491521	-0.67299357
Drift		19.100735	21.1536649	40.8530329
Waschen		1.49619733	-0.48836982	-0.60221423
NO3_10		10.0618219	-0.31680445	10.8092955
NO3_10		10.0412176	-0.33441911	9.29228737
NO3_10		10.4712948	-0.30406965	12.8654393
NO3_10		10.6551975	-0.30689256	10.4512476
Wasch (ignorieren)		1.49116767	-0.51829568	-1.2200989
Drift		19.100735	21.1536649	40.8530329
Waschen		1.49619733	-0.48836982	-0.60221423
NO3_35		35.0796809	-0.22793318	37.1426429
NO3_35		34.9577991	-0.21824331	40.0593672
NO3_35		34.8613618	-0.18781393	41.123596
NO3_35		34.947429	-0.21606544	36.4613042
Wasch (ignorieren)		1.54452668	-0.53121744	-1.11813155
Drift		19.100735	21.1536649	40.8530329
Waschen		1.49619733	-0.48836982	-0.60221423
EA_10		1.49178423	-0.3452973	9.45105786
EA_10		1.49229492	-0.34084279	12.2749047
EA_10		1.49258863	-0.33565553	11.2230311
EA_10		1.49692922	-0.3602262	8.66051545
Wasch (ignorieren)		1.48212883	-0.52367329	-2.11103055
Drift		19.100735	21.1536649	40.8530329
Waschen		1.49619733	-0.48836982	-0.60221423
EA_35		1.48567131	-0.38024767	35.3317352
EA_35		1.48134365	-0.42745922	35.9767452
EA_35		1.47878065	-0.41954297	37.4707402
EA_35		1.48524325	-0.28494525	32.8335176

Anhang A1 :

Ausschnitt aus der Ergebnistabelle eines Analysenlaufes auf dem SKALAR CFA – System nach der Konvertierung in ein Excel – Format. Dieses Beispiel zeigt die Messergebnisse im Rahmen der Vergleichsmessung vom Herbst 2001 (vergl. 6) Um die ursprünglich in einer einzigen langen Tabelle zusammengefassten Daten übersichtlicher darstellen zu können, wurde die Originaldatei in mehrere Teile aufgespalten und um die kursiv dargestellten Angaben ergänzt.

12-55-800		18.9215262	2.1466694	21.3091252
12-55-800		18.9378391	0.55645261	20.7242179
12-55-800		18.8894504	0.21067451	20.8457862
12-55-800		18.8592442	0.09427671	19.3766903
MW		18.902015	0.75201831	20.5639549
Abw		0.03488678	0.95025869	0.83066021
Abw%		0.18456645	126.361112	4.03939908
12-55-10		1.54363184	-0.050729	2.46337533
12-55-10		1.53834681	-0.25607875	1.48587964
12-55-10		1.53782353	-0.18445051	3.03280597
12-55-10		1.54177521	-0.20883893	1.92199852
MW		1.54039435	-0.1750243	2.22601487
Abw		0.00278027	0.08803679	0.6701935
Abw%		0.18049071	-50.2997536	30.1073236
12_24		16.502749	1.06642524	27.5295033
12_24		16.473589	0.48717286	27.9827525
12_24		16.4831683	0.01322742	26.7523544
12_24		16.4325616	-0.43166691	26.3763731
MW		16.473017	0.28378965	27.1602458
Abw		0.02957478	0.64264173	0.72885758
Abw%		0.17953472	226.450023	2.6835456
12-55-100		12.7580146	0.61189952	13.2569244
12-55-100		12.7407575	-1.07378909	12.1080231
12-55-100		12.7925134	1.99208234	14.1098568
12-55-100		12.8474342	-2.51462843	13.3626063
MW		12.7846799	-0.24610892	13.2093527
Abw		0.04704495	1.96442645	0.82655595
Abw%		0.36797906	-798.19394	6.25735398

Anhang A2 :

Originalausdruck der ersten Seite der Ergebnisliste eines Analysenlaufs des SKALAR
TN – Analysators
Dieses Beispiel zeigt die Messergebnisse von Proben der Vergleichsmessung vom
Herbst 2001 (vergl. 6).

Analysis Name p-11205a.adb

Template Name p-11205a.tdb

Date Mittwoch, Dezember 5, 2001
Time 10:33

Start Oven Temp. 858 °C
Start Cooler Temp. 4 °C

Version 1.3 Beta 26
Info

Element Nitrogen
Integration Time 60 s
Samples 4
Extra Samples 2
Max. CV 1 %
SampleTime 150 s

No	Type	FileName	Date/Time	Max. Area	Max Conc.	Order	Correlation	Volume	Sol.
1	TN	This Analysis	Dez 5 2001, 10:33	456911	36.1863	1	0.99977	100 µl	Yes

Inj. Order	Position	Type	Identification	Dilution Factor					
1	1	Unknown	wash35mg	1 x					
			<u>Injection Type</u>	<u>Conc.</u>	<u>Area</u>	<u>CV</u>	<u>Inj. Volume</u>		
			<u>TN</u>	<u>46.583</u>	<u>582814</u>	<u>2.293</u>	<u>100 µl</u>		
			<u>Sample</u>	<u>Conc.</u>	<u>Area</u>	<u>Curve</u>	<u>Oven</u>	<u>Cooler</u>	<u>Original</u> <u>Selected</u>
			1	46.953	587428	1	860	4	Yes Yes
			2	45.129	564697	1	868	4	Yes Yes
			3	44.542	557378	1	844	4	Yes -
			4	46.572	582679	1	854	4	Yes Yes
			5	112.561	1405243	1	860	4	Yes -
			6	47.677	596455	1	851	4	Yes Yes

Inj. Order	Position	Type	Identification	Dilution Factor					
2	2	Unknown	wash0mg	1 x					
			<u>Injection Type</u>	<u>Conc.</u>	<u>Area</u>	<u>CV</u>	<u>Inj. Volume</u>		
			<u>TN</u>	<u>1.468</u>	<u>19918</u>	<u>74.391</u>	<u>100 µl</u>		
			<u>Sample</u>	<u>Conc.</u>	<u>Area</u>	<u>Curve</u>	<u>Oven</u>	<u>Cooler</u>	<u>Original</u> <u>Selected</u>
			1	0	0	0	848	4	Yes Yes
			2	1.852	25242	1	850	4	Yes Yes
			3	1.371	19244	1	858	4	Yes Yes
			4	0	0	0	861	4	Yes -
			5	0	0	0	846	4	Yes -
			6	2.650	35187	1	853	4	Yes Yes

Inj. Order	Position	Type	Identification	Dilution Factor					
3	3	Standard	MQ-bl	1 x					
			<u>Injection Type</u>	<u>Conc.</u>	<u>Area</u>	<u>CV</u>	<u>Inj. Volume</u>		
			<u>TN</u>	<u>0.000</u>	<u>0</u>	<u>0.000</u>	<u>100 µl</u>		
			<u>Sample</u>	<u>Conc.</u>	<u>Area</u>	<u>Curve</u>	<u>Oven</u>	<u>Cooler</u>	<u>Original</u> <u>Selected</u>
			1	0	0	1	857	4	Yes -
			2	0	0	1	862	4	Yes -
			3	0	0	1	865	4	Yes Yes
			4	0	0	1	844	4	Yes Yes
			5	0	0	1	854	4	Yes Yes
			6	0	0	1	864	4	Yes Yes

Anhang A2 : (Fortsetzung)

Originalausdruck einer Seite der Ergebnisliste eines Analysenlaufs des SKALAR TN – Analysators

Dieses Beispiel zeigt die Messergebnisse von Proben der Vergleichsmessung vom Herbst 2001 (vergl. 6).

TN		36.230	453762	1.026		100 µl		
Sample	Conc.	Area	Curve	Oven	Cooler	Original	Selected	
1	36.352	455284	1	855	4	Yes	Yes	
2	35.320	442428	1	849	4	Yes	-	
3	36.482	456911	1	861	4	Yes	Yes	
4	36.409	456004	1	857	4	Yes	Yes	
5	35.675	446850	1	845	4	Yes	Yes	
6	37.813	473503	1	855	4	Yes	-	

Inj. Order	Position	Type	Identification		Dilution Factor			
9	9	Unknown	12_53		1 x			
Injection Type		Conc.	Area	CV	Inj. Volume			
TN		7.394	94315	4.518	100 µl			
Sample	Conc.	Area	Curve	Oven	Cooler	Original	Selected	
1	7.089	90524	1	866	4	Yes	Yes	
2	6.588	84280	1	866	4	Yes	-	
3	7.106	90729	1	855	4	Yes	Yes	
4	7.698	98112	1	846	4	Yes	Yes	
5	12.423	157016	1	857	4	Yes	-	
6	7.681	97897	1	863	4	Yes	Yes	

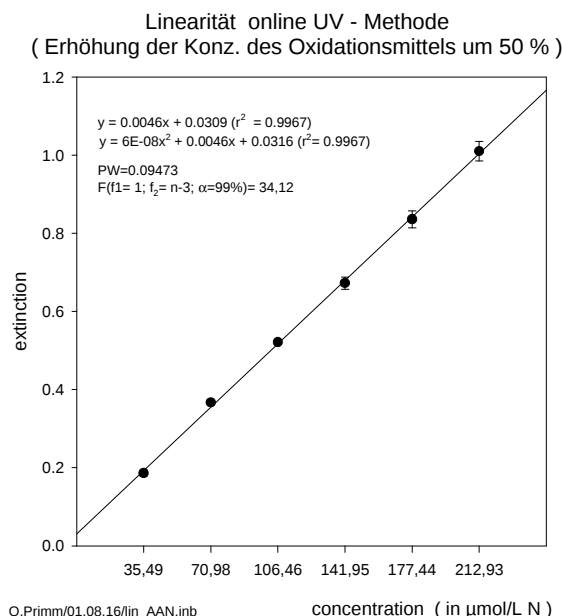
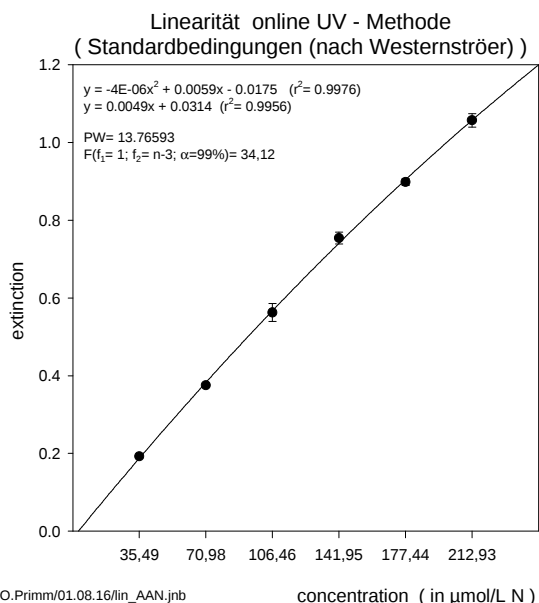
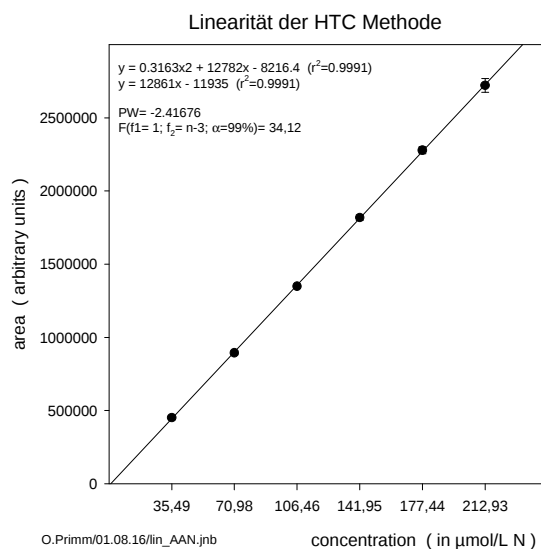
Inj. Order	Position	Type	Identification		Dilution Factor			
10	10	Unknown	12_22		1 x			
Injection Type		Conc.	Area	CV	Inj. Volume			
TN		63.982	799698	1.154	100 µl			
Sample	Conc.	Area	Curve	Oven	Cooler	Original	Selected	
1	64.003	799954	1	845	4	Yes	Yes	
2	63.204	790000	1	844	4	Yes	Yes	
3	64.973	812055	1	855	4	Yes	Yes	
4	63.748	796784	1	862	4	Yes	Yes	
5	60.964	762076	1	853	4	Yes	-	
6	61.274	765939	1	847	4	Yes	-	

Inj. Order	Position	Type	Identification		Dilution Factor			
11	11	Unknown	12_55_45		1 x			
Injection Type		Conc.	Area	CV	Inj. Volume			
TN		6.131	78583	1.378	100 µl			
Sample	Conc.	Area	Curve	Oven	Cooler	Original	Selected	
1	6.241	79958	1	857	4	Yes	Yes	
2	10.030	127184	1	855	4	Yes	-	
3	6.058	77677	1	866	4	Yes	Yes	
4	4.775	61684	1	845	4	Yes	-	
5	6.065	77760	1	853	4	Yes	Yes	
6	6.160	78940	1	863	4	Yes	Yes	

Inj. Order	Position	Type	Identification		Dilution Factor			
12	12	Unknown	12_20		1 x			
Injection Type		Conc.	Area	CV	Inj. Volume			
TN		89.513	1117938	1.007	100 µl			
Sample	Conc.	Area	Curve	Oven	Cooler	Original	Selected	
1	92.333	1153092	1	862	4	Yes	-	
2	90.748	1133336	1	863	4	Yes	Yes	
3	89.443	1117071	1	858	4	Yes	Yes	
4	89.274	1114963	1	843	4	Yes	Yes	

Anhang A3 :

Linearität der Kaibrierkurven zur TN Bestimmung nach der HTC – Methode (oben) und nach der online – UV Methode (unten) im Konzentrationsbereich bis 210 µM N



Da der Arbeitsbereich beim online – UV Verfahren durch die eingesetzte Menge an Oxidationsmittel begrenzt wird (unten links), kann der Arbeitsbereich durch Erhöhung der Menge des Oxidationsmittels in gewissen Grenzen vergrößert werden. Die dargestellten Messpunkte und Standardabweichungen sind jeweils berechnet aus 6 Einzelmessungen.

Anhang A4

Final report

TN Interlaboratory Study in Summer 2002

This interlaboratory study was performed within the project :
Verbesserte Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts in Süßwasser-,
Brackwasser- und Seewasserproben - Validierung der Analyseverfahren

This project was supported by Umweltbundesamt Berlin (FKZ 200 22 231)

Organization :
Klaus Nagel , Oliver Primm
Institut für Ostseeforschung Warnemünde
Seestr. 15
18119 Rostock
e-mail : klaus.nagel@io-warnemuende.de

Contents

1	Introduction	3
2	Sample material	5
2.1	Selection of sample material	5
2.2	Preparation of sample material	5
2.3	Preparation of ampoules	6
2.4	Stability and homogeneity check	6
3	Interlaboratory study	10
3.1	Time schedule and participants	10
3.2	Methods applied by the participating laboratories	10
3.3	Reported results and evaluation of the interlaboratory study	12
3.4	Some remarks on the results of the interlaboratory study	15
4	References	22
5	Annex	23
5.1	Table A1 : List of participating laboratories	23
5.2	Table A2 : List of reported TN results	24
5.3	Table A3 : Initial characterization of samples	26
5.4	Table A4 : Concentrations after filling the ampoules	27
5.5	Fig. A1 : Evaluation of results reported for Koroleff – methods	28
5.6	Fig. A2 : Evaluation of results reported for HTC – methods	30
5.7	Table A5 : List of reported TOC results	32

1 Introduction

Total nitrogen (TN) is one of the key parameters to describe the environmental status of aquatic ecosystems. This parameter is included in most national and international monitoring programs and determined by a large number of laboratories. For the comparability in monitoring programs it is essential that the results produced by different laboratories are comparable. To achieve this, different quality assurance systems were established on laboratory, national and international scale. One point in this quality assurance system are interlaboratory studies between laboratories, which should prove that the different methods or modifications of methods applied will give the same results.

In aquatic systems, TN includes a broad variety of different compounds ranging from 'simple' inorganic nutrient salts (nitrate, nitrite, ammonia) to complex organic molecules in which nitrogen is bound in different structures. Due to this complex composition of TN there is no method known to measure TN concentration directly. All methods published require the complete conversion of all different N – containing compounds in a sample into a specific reaction product which can be determined specifically. According to the reaction used for the digestion step and the resulting product, methods for the determination of TN can be separated into three basic groups (Fig. 1).

The Kjeldahl method, which is known for more than 100 years (Kjeldahl (1883)), is nowadays not commonly used for analysis of environmental samples because it is laborious to perform and gives many chances to produce uncertain results. Some 40 years ago, wet digestion methods were published which are more applicable for routine use and to analyze larger numbers of aquatic samples. One method widely used in the last years is that published by Koroleff (Koroleff (1983)). Since the middle of the 1980 catalytic oxidation methods were adopted to assay TN or DN in aquatic samples (Suzuki et al. (1985)). One advantage of catalytic oxidation methods is that they are easy to perform. For all methods numerous modifications are published, mainly because there are erroneous results found under specific conditions or in some special samples.

Although TN determinations were performed by many laboratories for some years in monitoring programs, the 'community precision' for this parameter is significantly lower than that achieved for other determinants, e.g. for most of the inorganic nutrient salts. It can be contributed to the complexity of the methods used for TN determination that results reported in interlaboratory studies show higher deviation due to relatively small variations occurring in single steps of the procedure. Apart from external quality assurance systems, the internal use of reference or control material in every analysis is recommended. However, this recommendation caused some problems in the past, because appropriate (natural) reference material had not been available. The use of artificial reference or control material may not always be the first choice, as it is known for some procedures

that artificial material does not prevent erroneous results caused by matrix effects (for example see Arminot & Kérouel (2001)).

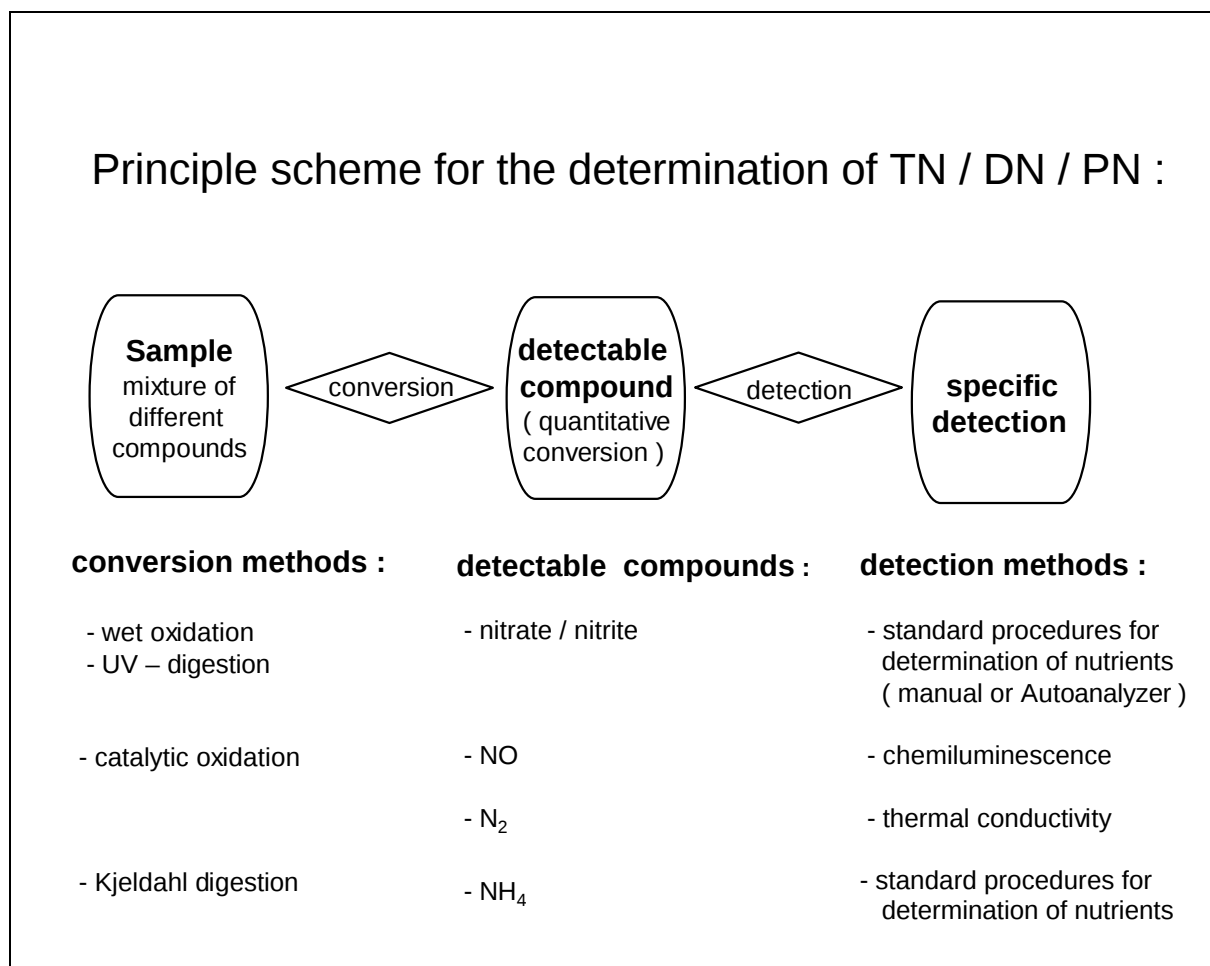


Fig. 1 Classification of methods applied for the quantification of TN (and DN & PN) in aquatic systems.

Since one or two years however, some natural reference materials are offered for inorganic nutrient salts, TN (DN) and TP (DP) by QUASIMEME (QUASIMEME; <http://www.quasimeme.marlab.ac.uk/>) or for DOC (and DN) (Hansell (2001)). Although it may be difficult or expensive to obtain this reference material, its broad use can significantly enhance the 'community precision' in interlaboratory studies and the reliability of results.

2 Sample Material

2.1 Selection of Sample Material

Samples analyzed by the laboratories involved in the BLMP ranged from samples taken in inshore lakes and rivers to samples taken in the marine ecosystems and cover a broad range of concentrations and different matrices. Therefore a number of different samples had been taken for this interlaboratory study from inshore lakes and some coastal and offshore stations in the Baltic Sea area during the years 2000 to the beginning of 2002. Three of these samples had been selected for this exercise differing in concentrations of TN and / or salinity. Additionally a fourth sample was added, which was prepared synthetically by dissolving pure Creatinin in pure water (Milli-Q plus water). This sample was added to improve the completeness of the digestion step of the methods used by the participating laboratories.

Although it is stated that total nitrogen (TN) should be determined, filtered samples are used for the natural samples in this interlaboratory study. So strictly speaking this exercise is an interlaboratory study of total dissolved nitrogen (DN). The filtration step is included because it is hardly possible to guarantee the stability and homogeneity of unfiltered samples due to a number of particle forming and degrading processes taking place during the storage process and because of adsorption effects at the walls of the sample containers. This procedure to filter the samples (at 0.2 μm) is also applied by QUASIMEME for the preparation of TN reference material, which is available since the second half of 2002 (see : Information on aqueous test materials for nutrients; <http://www.quasimeme.marlab.ac.uk/>).

2.2 Preparation of Sample Material

Natural samples were filtered immediately after sampling using Whatman GF/F filters and a vacuum filtration system with controlled vacuum and - depending on the volume of the sample - were transferred to acid cleaned 2.5 l glass bottles or preconditioned and acid cleaned 5 l or 10 l plastic (LDPE) carboys. The initial concentrations of nutrient salts and organic material and the salinity is shown in Annex Tab. A3.

In the tightly closed containers, samples were aged for 4 to 6 months in a dark cooling chamber (+8°C) to allow decomposition of labile material and oxidation of reduced compounds. Containers were not opened until the samples were transferred into the ampoules used for storing and distributing the samples. Initial concentrations of nutrient salts, organic material and salinity are given in Annex Tab A3. It is known from other TN or DN interlaboratory studies that estuarine or marine samples are stable for far more than a year, even if they are stored at room temperature in the dark (Sharp et al. 2002b).

For the interlaboratory study, aliquots of each sample were transferred to 50 ml, 20 ml or 10 ml glass ampoules that had been rendered 'organic free' by a procedure which includes incubation in 10% HCL overnight, rinsing thoroughly with Milli-Q water and baking in an oven at 450°C for 6 hours. The ampoules were filled according to the procedure described by Sharp et al (2002a) and sealed immediately using a portable propane torch. No acid or preservatives were added to the samples.

As in the sample taken from an inshore Lake in Thüringen (Sample B in this interlaboratory study) organic material precipitated during the aging period, this sample is filtered a second time and stored in a tightly closed carboy in the cooling chamber for an additional aging period of about two months. When the samples were transferred to ampoules afterwards, no particles were visible. Precipitation of brownish organic material during the aging period does not only appear in this lake sample used for this interlaboratory study, but also in samples taken from other inshore lakes. It is assumed that this precipitate is caused by high amounts of relatively labile humic substances in the lake waters that tend to form precipitates during the aging process.

The fourth sample was prepared synthetically by dissolving Creatinin (Merck No 105206, für biochemische Zwecke) in pure water (Milli-Q plus water). Before transferring to ampoules, the sample was stored in a glass container for some days in a refrigerator (4°C – 8°C). Concentrations of nutrient salts and organic material in the samples after filling the ampoules are provided in Annex Tab. A4.

2.3 Preparation of ampoules

The samples were transferred to ampoules several weeks before sending them out by the procedure described elsewhere (Sharp et al. 2002a). Each filled ampoule was numbered individually so that the sequence and time of filling can be retraced. After sealing the ampoules were stored in a cooling chamber (+8°C) in the dark. The ampoules send out to the individual laboratories were selected randomly from the whole set of ampoules of a sample. This procedure was chosen in order to detect possible systematic errors during the filling process and to check the stability and homogeneity of the whole set of ampoules prepared for each distributed sample.

According to the requests of the laboratories, ampoules with appropriate sample volume were send out at the beginning of June 2002 and arrived within 24 hours in the participating laboratories.

2.4 Stability and homogeneity check

As sample containers were not opened during the aging process, generally not concentrations had been measured during the aging time. Only for sample A which was taken as a large volume sample on a monitoring cruise in 2001, a sub sample was

Stability Check : Sample A

Y-axis: TDN ($\mu\text{M N}$)

X-axis: Date

Legend:

- ▲ HTC (SKALAR)
- online - UV
- ▼ HTC (Shimadzu/Skalar)
- assigned value
(calculated from intercalibration data)

Date	Method	TDN ($\mu\text{M N}$)	Error ($\mu\text{M N}$)
01.05.2001	HTC (SKALAR)	29.2	±1.5
01.06.2001	online - UV	23.5	±0.5
01.06.2001	online - UV	24.0	±0.5
01.06.2001	online - UV	24.5	±0.5
01.06.2001	online - UV	24.8	±0.5
01.07.2001	HTC (Shimadzu/Skalar)	24.2	±0.5
01.02.2002	online - UV	22.8	±0.5
01.05.2002	online - UV	24.0	±0.5
01.05.2002	HTC (Shimadzu/Skalar)	24.2	±0.5
01.06.2002	HTC (SKALAR)	22.5	±1.0
01.08.2002	HTC (SKALAR)	21.5	±0.8
01.08.2002	HTC (Shimadzu/Skalar)	23.5	±0.5
01.09.2002	HTC (Shimadzu/Skalar)	23.5	±1.0

Assigned value: 23.8 $\mu\text{M N}$

K. Nagel \ stab_01_rev \ 21/03/03

After transferring the samples into the ampoules, from each sample used for this interlaboratory study a set of ampoules was selected to check the stability and homogeneity at different times between the filling of ampoules and the end of data submission. For each check two or three ampoules were selected which were filled near the beginning and near the end of the filling procedure of each sample. In the case of the analysis of 3 samples, the third sample was selected randomly from those ampoules filled around the middle of the filling process. The analyses of these ampoules was performed by HTC – methods as well as with the UV – online method. The results are given in Fig. 3.

Although there are some deviations among the measurements, no systematic concentration change can be proven. There are no hints from these measurements that there are inhomogeneities or systematic errors caused by the filling process.

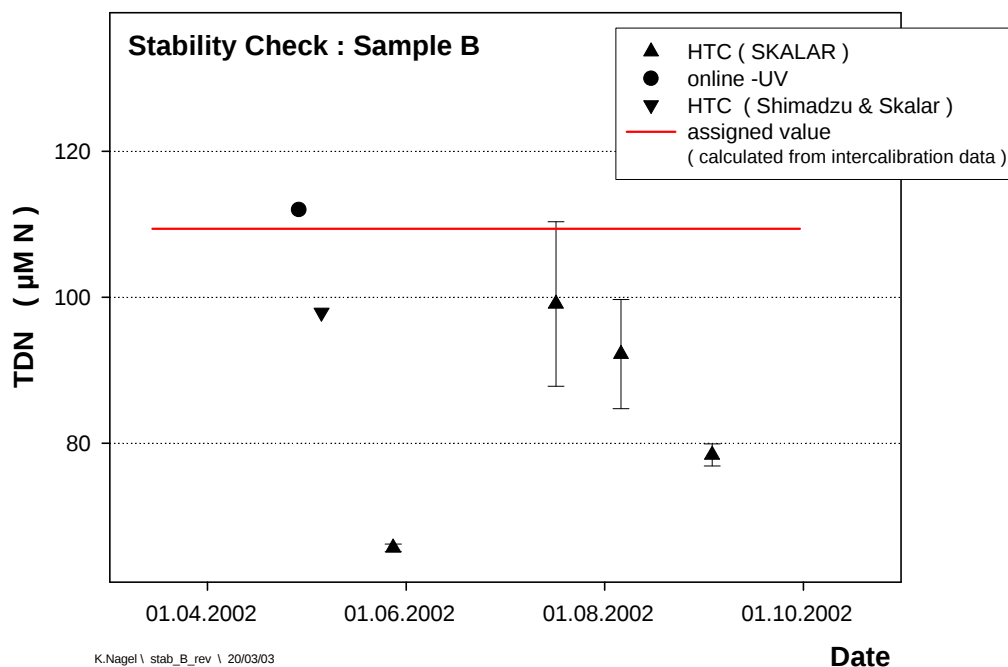
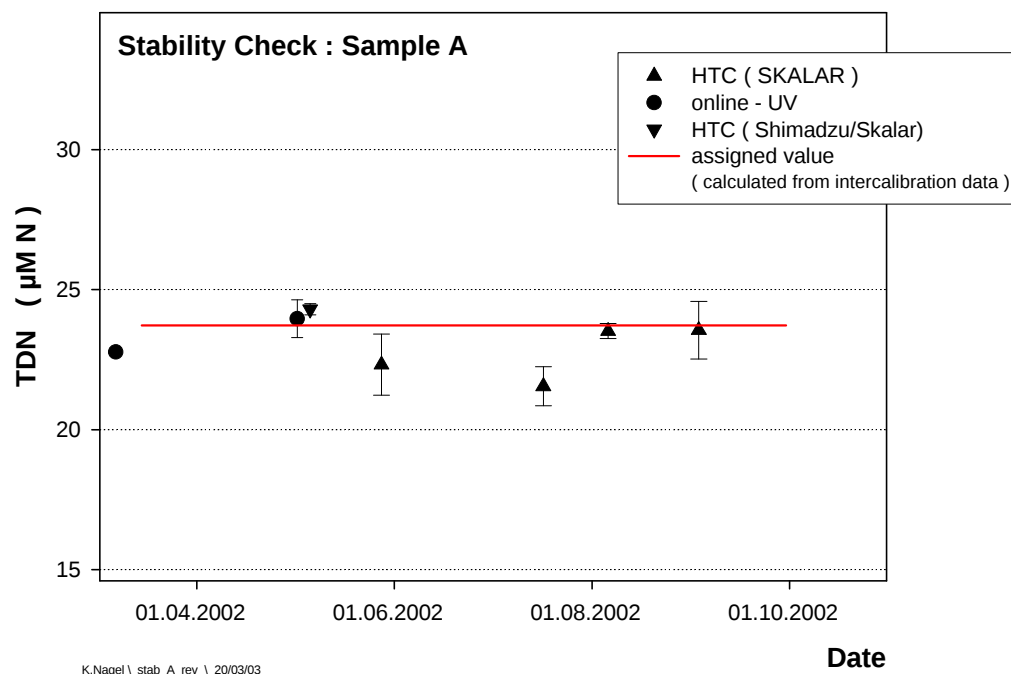


Fig. 3 : Stability of the samples used for TN interlaboratory study during summer 2002

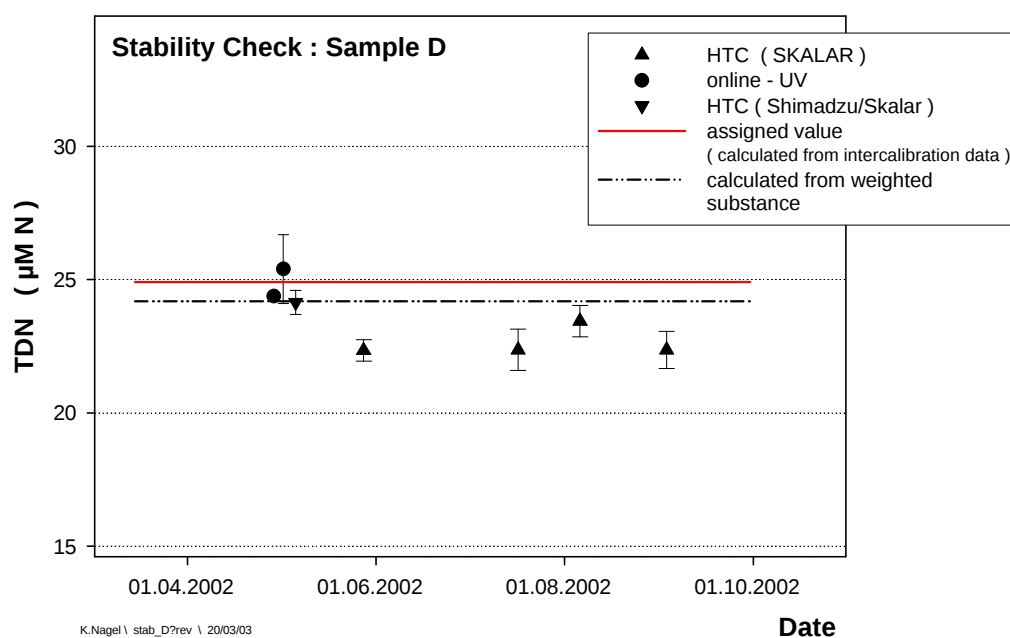
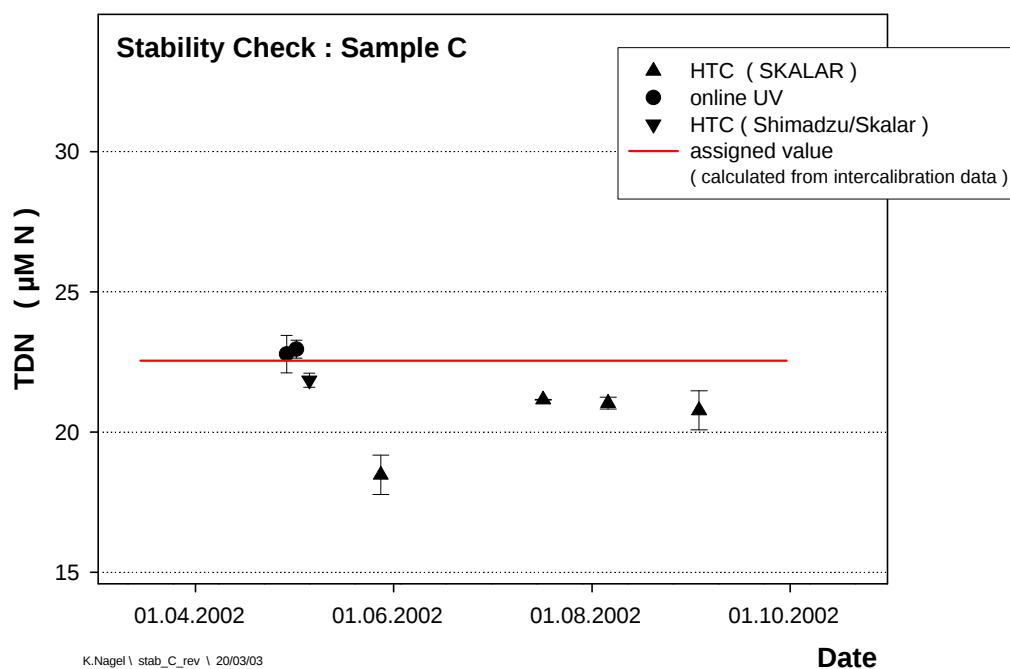


Fig. 3 (continued)

3. Interlaboratory study

3.1 Time schedule and participants

This interlaboratory study was organized by the Institut für Ostseeforschung Warnemünde within the project 'Verbesserte Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts in Süßwasser-, Brackwasser- und Meerwasserproben – Validierung von Analyseverfahren', which is supported by the Umweltbundesamt Berlin (Project No 200 22 231). Samples used for this interlaboratory study were partly taken within regular activities of the institute, partly within the project during the years 2000 – 2002 and filled into ampoules in early spring 2002. The ampoules were sent out to the laboratories between 03/03/02 and 05/06/02 by express mail and arrived in almost all laboratories within 24 hours.

Laboratories were asked to report the results until the beginning of August, but the last results did not arrive before the mid of September 2002. Reported data were checked for consistency and formatted in Excel worksheets for the first evaluation process. The evaluation of the results according to DIN ISO 5725 with the program PROLAB98 (Dr. Uhlig, quo data, Dresden) was performed by Dr. P. Voitke and Dipl.-Ing J. Wellnitz (FG II 3.5, Umweltbundesamt Berlin). This first evaluation step was finished at the end of September. After analysis of the outcome it was decided to exclude some samples and reevaluate the results. This step was finished in November.

Samples had been sent out to 22 laboratories (plus the laboratory of the organizing institute). One laboratory draw back his attendance to participate because of organizational reasons. Laboratories reporting results are listed in Annex Tab. A1. As some of the laboratories reported results obtained with more than one method, the number of data sets available for the evaluation was 29. It should be noticed that an individual 'Laboratory Code' was given to every data set reported for measurements performed with one method by a laboratory. The participating laboratories were informed about the laboratory codes assigned to the individual methods.

3.2 Methods applied by the laboratories participating in the interlaboratory study in summer 2002

As all laboratories were asked to apply their 'standard method' for the determination of TN, a number of different methods had been used to obtain the reported results. These methods can be grouped into three major classes with respect to the digestion step of the procedure :

- digestion of the sample in the presence of an oxidant at elevated temperature ('Koroleff' digestion) (16 data sets)
reaction product to be quantified : nitrate

- digestion of the sample by UV – irradiation (in the presence of an oxidant)
(2 data sets)
reaction product to be quantified : nitrate
- high temperature combustion of the sample in the presence of a catalyst (HTC
method) (11 data sets)
reaction product to be quantified : NO

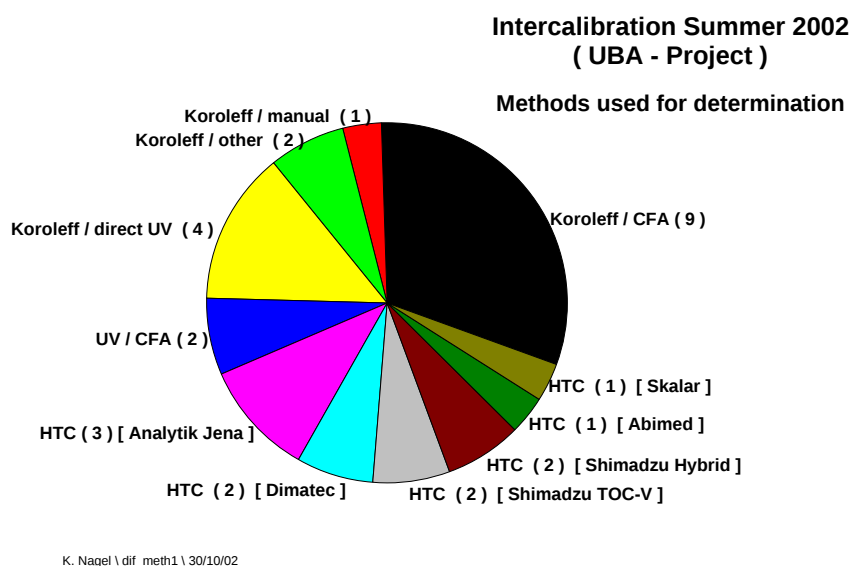


Fig. 4 : Classification of determination methods used in the intercalibration exercise

Further subclasses can be defined by taking into account the method for the quantification of the reaction products of the digestion step of the 'Koroleff digestion' procedures or by differences in the technical procedures to perform the HTC – methods (Fig. 4).

The number of measurements per sample reported differs between laboratories. Most of them report a duplicate measurement for each sample, others report more than 10 values for the same sample (e.g. single injections in HTC methods). Some of the laboratories got additional ampoules because of damage during transport or due to other reasons. Therefore some laboratories reported results obtained from measurements using a larger number of ampoules of the same sample.

3.3 Reported results and evaluation

For a first overview, mean values and standard deviations were calculated for each sample and each laboratory. These values are plotted versus laboratory code number and shown in Fig. 5 and are listed as means & s.dev. in Annex Tab. A2. There was no further statistical treatment of the data at this step. It should be noticed, that those data stated as insufficient for different reasons by a laboratory itself were not included. One laboratory reported data obtained with a method which is in a 'testing phase' for this laboratory. As these data seem to be accurate they are included here.

During the second stage all data sets including all reported values for repeated measurements of the same sample are compiled and evaluated according to ISO 5725 using the program PROLAB (Dr. Uhlig, quo data, Dresden). This evaluation step was done by Dr. P. Voitke and Dipl.-Ing. J. Wellnitz (FG II 3.5, Umweltbundesamt Berlin). Only data clearly labelled by the reporting laboratory as insufficient were not used for this evaluation purpose.

The elimination of outliers was carried out according to ISO 5725:

Type A: individual within-laboratory outlier (e.g. one out of four results deviates significantly)

Type B: between-laboratory outlier due to significant deviation of the laboratory mean from the total mean

Type C: between-laboratory outlier due to significant deviation of the within-laboratory standard deviation from the total mean of the within-laboratory standard deviation

Because the values for sample A reported by laboratories 1, 11 and 12 were not eliminated according to ISO 5725 it was decided to exclude these values manually (Type D). After the elimination of outliers the third evaluation of the results for each sample was carried out and shown in Fig. 6. The reasons for samples A and C reported by laboratories 1, 11 and 12 will be discussed in detail later (see. 3.4).

In a fourth step laboratories were grouped according to the methods they used for the determination of TN. The first group includes those laboratories applying wet digestion methods of samples ('Koroleff method') and subsequent determination of nitrate, independently from the method used for nitrate determination.

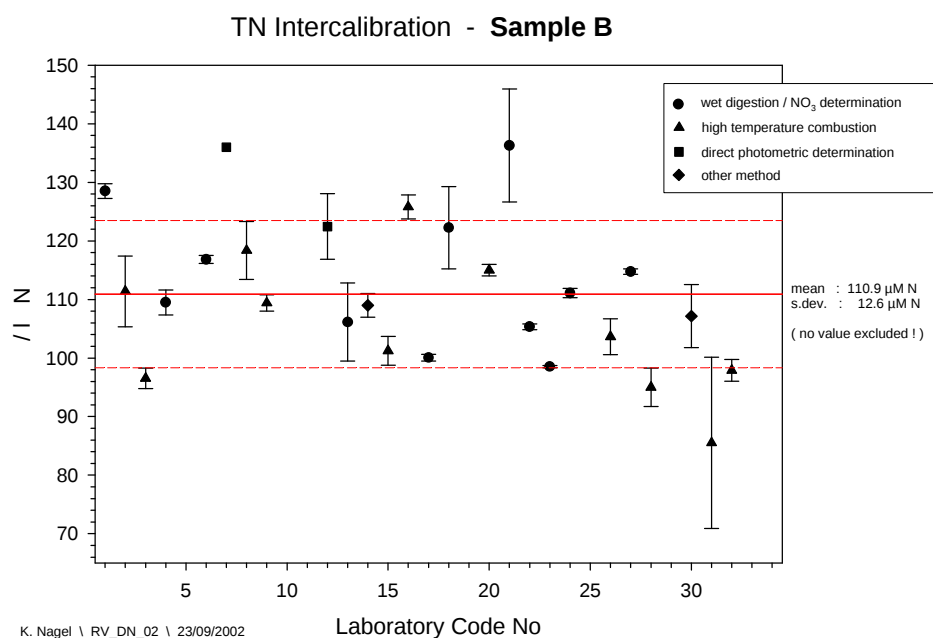
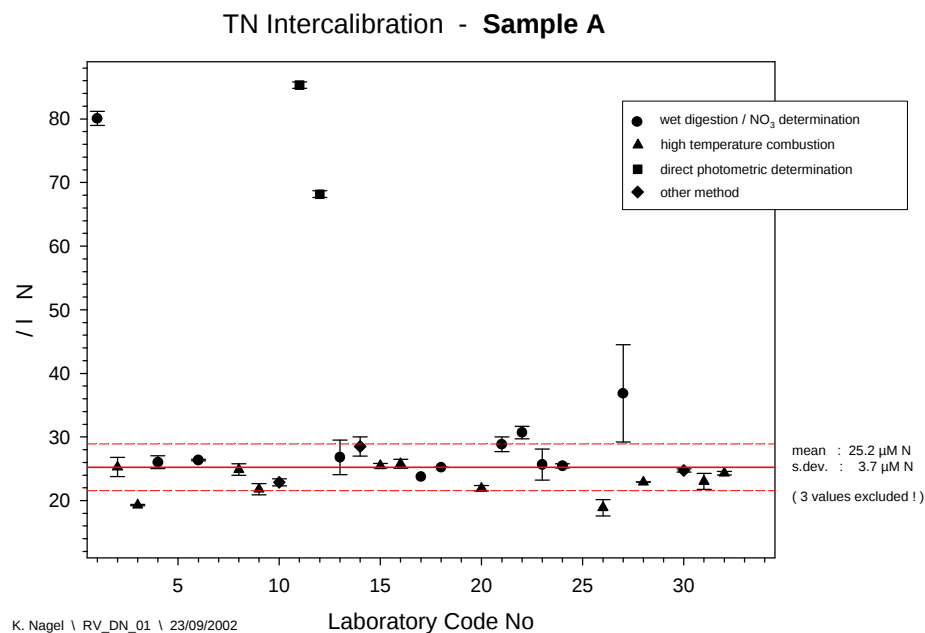


Fig. 5 : Graphs of data reported for TN by the participating laboratories. Data are plotted without statistical treatment.

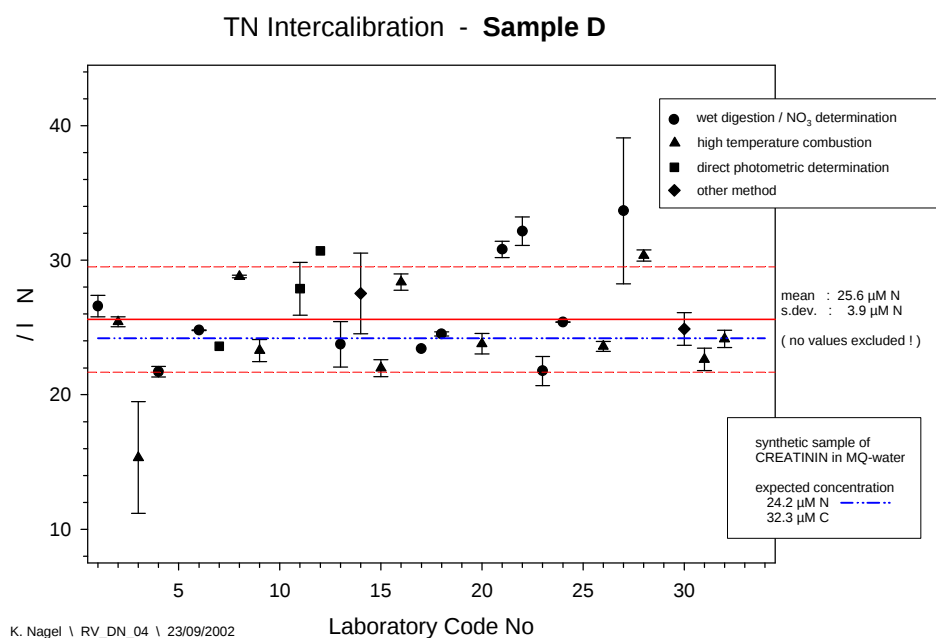
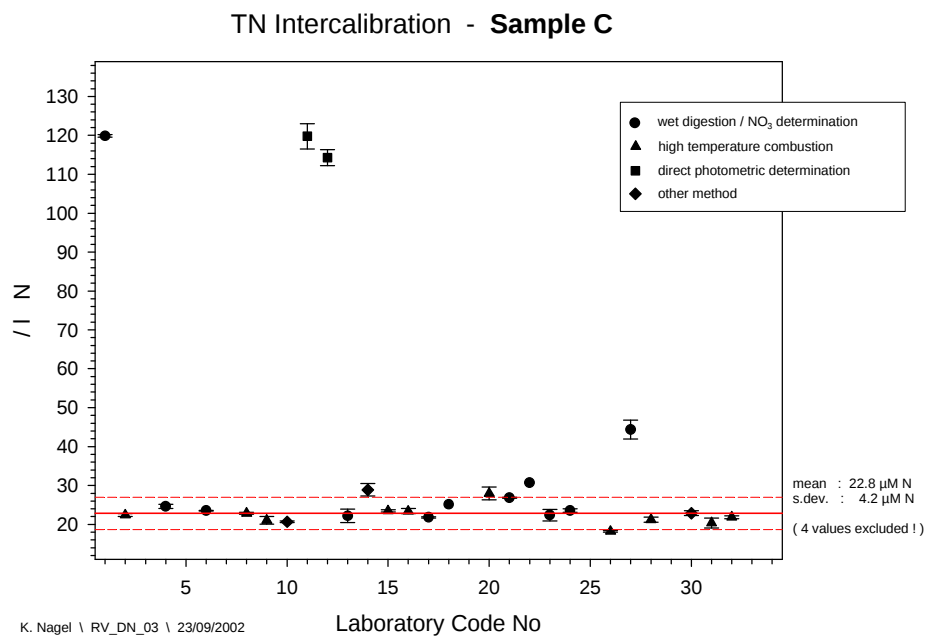


Fig. 5 (continued)

Only 3 laboratories using direct UV determination at 210 nm for nitrate determination (laboratory codes 1, 11, 12) were excluded from the evaluation of samples A and C. In this group 12 (samples A & C) or 16 (samples B & D) are combined. The results of this group is shown in Annex Fig. A1. In another group all laboratories using HTC methods are combined. This group includes 11 laboratories. The results for this group are shown in Annex Fig. A2. Because of the low number of laboratories applying (online-) UV methods this group was not evaluated separately. The results of the second and fourth evaluation step are summarized in Table 1.

3.4 Some remarks on the results of the interlaboratory study

One general outcome of this interlaboratory study is that within this group of laboratories one can expect results 'correct' within a range of approximately 10% to 15%. Although this result is comparable with the outcome of recent other interlaboratory studies (e.g. Woitke et al. (1999), Sharp et al. 2002b), it should not be discussed here whether this result is 'good', 'acceptable' or should give reason to start efforts to improve the 'community precision'. Nevertheless some remarks should be made to some aspects of this exercise.

The first overall view of the results showed extremely high values for the two 'seawater' samples A and C reported by three laboratories (Fig. 5 and Annex Tab.A2). These three laboratories analyzed the samples by wet oxidation step converting nitric compounds to nitrate, which is subsequently quantified by direct UV – measurement at 210 nm. A fourth laboratory, which applied the same technique, did not analyze samples A and C and stated that this method is not suitable for seawater, because of the absorption of chloride and bromide, which are usually present in significant concentrations in seawater. Furthermore, the high amounts of dissolved organic material (DOM) in the samples (documented by high DOC concentrations, see Annex Tab. A3 & A4) also contribute significantly to high absorption in the UV – region. It should be pointed out that two of these laboratories stated to perform their TN determination according to DIN ISO 11905. This ISO standard is suitable also for determination of TN in seawater and provides rules for direct UV determination of nitrate in water showing significant absorption at 210 nm.

During the evaluation process according to DIN ISO 5725, data reported by these three laboratories are eliminated as 'outliers' only for sample C, but not for sample A. As there are some reasons to assume that the 'background absorption' in the samples was not properly corrected for the quantification of nitrate after the digestion step, the data reported for sample A and C by these three laboratories are manually eliminated. The same three laboratories reported inconspicuous results for samples B and D, which are much lower in DOM and salt concentrations.

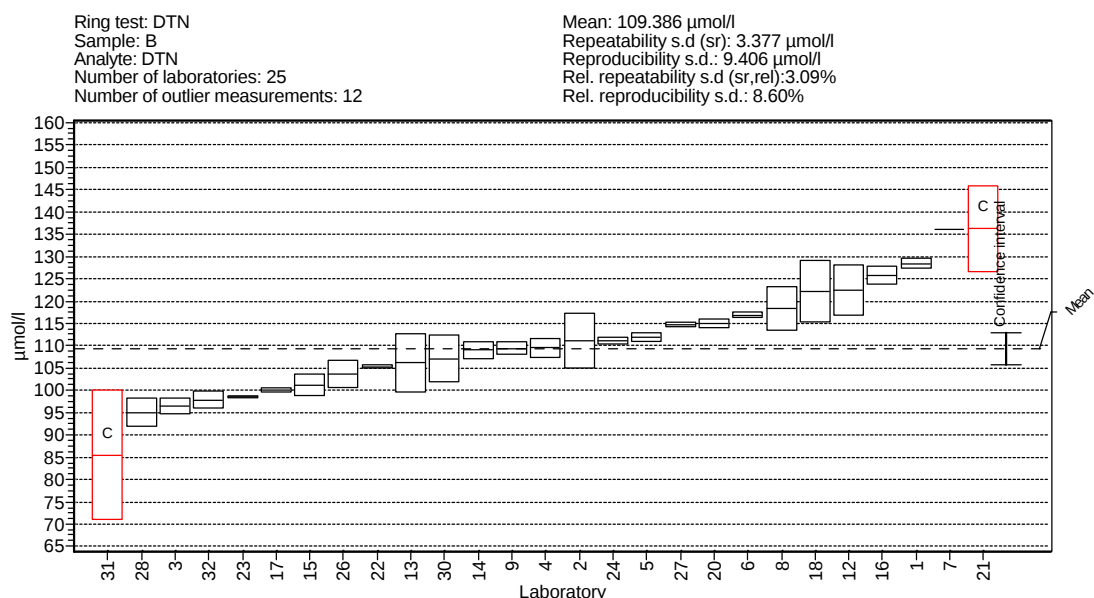
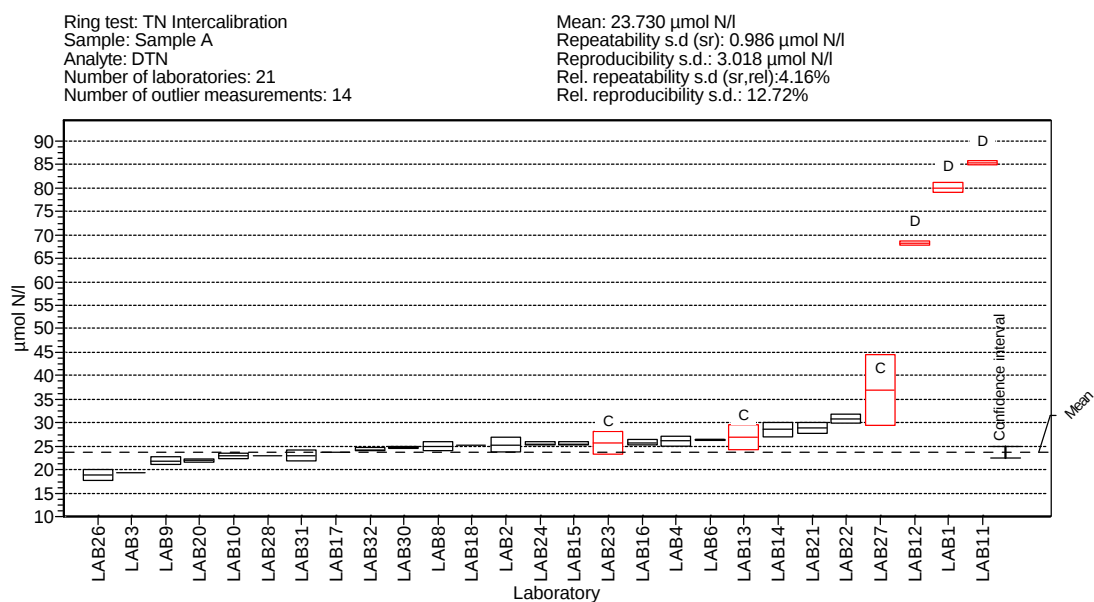


Fig. 6 : Evaluation of the TN – interlaboratory study in summer 2002
Evaluation based on results obtained by all methods !

Types of signed outliers (see also 3.3):

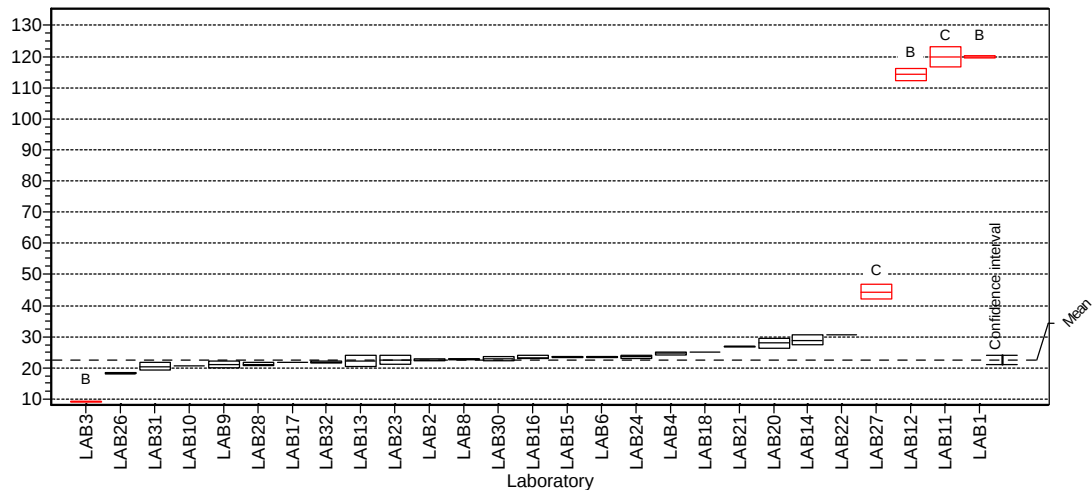
Type B: between-laboratory outlier due to significant deviation of the laboratory mean from the total mean

Type C: between-laboratory outlier due to significant deviation of the within-laboratory standard deviation from the total mean of the within-laboratory standard deviation

Type D: manually determined outliers

Ring test: TN Intercalibration
Sample: Sample C
Analyte: DTN
Number of laboratories: 22
Number of outlier measurements: 14

Mean: 22.536
Repeatability s.d (sr): 0.836
Reproducibility s.d.: 3.159
Rel. repeatability s.d (sr,rel): 3.71%
Rel. reproducibility s.d.: 14.02%



Ring test: DTN
Sample: D
Analyte: DTN
Number of laboratories: 26
Number of outlier measurements: 5

Mean: 24.912 $\mu\text{mol/l}$
Repeatability s.d (sr): 0.791 $\mu\text{mol/l}$
Reproducibility s.d.: 3.287 $\mu\text{mol/l}$
Rel. repeatability s.d (sr,rel): 3.18%
Rel. reproducibility s.d.: 13.19%

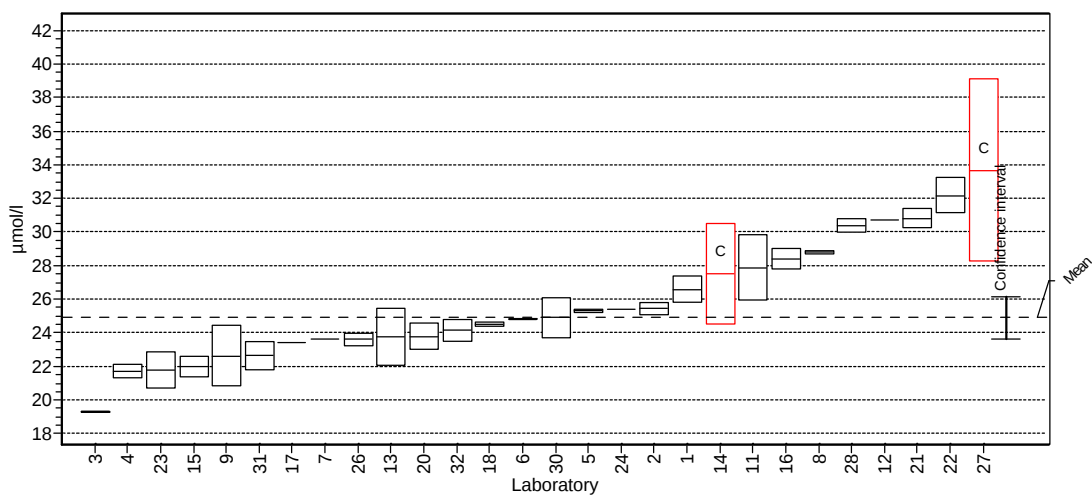


Fig. 6 : (continued)

The methods used by the majority of laboratories participating in this exercise can be grouped into wet digestion according to Koroleff and HTC – methods. Only two laboratories (7%) use an online – UV method on a CFA – system. As the number of laboratories applying this last mentioned method is too low for further statistical analysis and as the results reported by these two laboratories are within the range of reported values, no further comments should be made on this method.

The Koroleff – method or modifications of this method were applied by 16 laboratories (55%). Although the description of the digestion step given by some laboratories is fragmentary, it is obvious that a number of different modifications were used. For the digestion step, this concerns the volume and material of the bottles used, the composition and volume of the reagent added, time and temperature of heating the sample and the 'instrument' used for heating (e.g. autoclave or microwave oven).

9 of these 16 laboratories used CFA – systems to quantify the amount of nitrate produced in the digestion step, one laboratory performed manual nitrate analysis and two laboratories used other methods (Flow-Injection Analysis and Ionic - Chromatography). Four laboratories used direct UV detection of nitrate. Most of the laboratories reported two measurements for each sample, only three or four laboratories reported 3 or 4 numbers per sample (depending on the sample).

The results obtained by this group of laboratories show slightly higher mean values than those calculated for all participants (Tab. 1). The repeatability varies between 0.74 $\mu\text{M N}$ and 1.69 $\mu\text{M N}$ and the reproducibility between 2.54 $\mu\text{M N}$ and 7.77 $\mu\text{M N}$ (Tab 1).

HTC – methods were applied by 11 laboratories (38%) using a very heterogeneous set of instruments. Apart from three laboratories operating a multi N/C 3000 system (Analytik Jena) and two laboratories using a Shimadzu TOC-V system, all others performed their measurements on other (commercially available) instruments. Because of this heterogeneity, which concerns many different chemical and technical aspects (e.g. type of catalyst used, combustion temperature, plumbing of the system) no detailed comparison between different systems should be given here.

As only a rather small sample volume is injected for a single measurement on a HTC system, laboratories using this technique reported a larger number of single values for each sample. In most cases 4 or 6 values were reported, some laboratories submitted even more single results (up to 13 in one case). Due to fragmentary description of the details of the method used, the exact meaning of these numbers in the measuring process of the individual HTC systems is not absolutely clear.

Most HTC systems use a present number of single injections to calculate a mean value and a standard deviation. If the standard deviation exceeds a preset limit, additional injections are performed and – according to the number of additional injections – those values with major contribution to the standard deviation are canceled. This process is controlled automatically by the HTC system and the mean (together with the standard

deviation) calculated according to these preset conditions is the 'measured concentration' in the sample.

Tab. 1 : Compiled results of the TN – interlaboratory study evaluated according to DIN ISO 5725 for TN determination

Results of the evaluation of all reported values - independently from the method used for the analysis – are compared with those obtained by the group of laboratories applying Koroleff – methods or HTC – methods.

In the group applying Koroleff – methods, those laboratories using direct UV – measurements for the determination of nitrate are excluded for samples A & C. Numbers are taken from Fig. 6 and Annex Fig. A1 and A2.

	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D
All Methods				
mean	23.730	109.386	22.541	24.912
repeatability	0.986 (4.16%)	3.377 (3.09%)	0.826 (3.66%)	0.791 (3.18%)
reproducibility	3.018 (12.72%)	9.406 (8.60%)	3.088 (13.70%)	3.287 (13.19%)
Koroleff Methods				
mean	27.252	109.654	24.711	25.430
repeatability	1.688 (6.19%)	1.022 (0.93%)	0.981 (3.97%)	0.742 (2.92%)
reproducibility	2.542 (9.33%)	7.769 (7.09%)	3.039 (12.30%)	3.610 (14.19%)
HTC Methods				
mean	22.677	107.210	21.185	24.543
repeatability	1.041 (4.59%)	2.649 (2.47%)	0.364 (1.72%)	0.518 (2.11%)
reproducibility	2.657 (11.72%)	10.73 (10.01%)	2.375 (11.21%)	3.304 (13.46%)

By variation of the preset number of injections, the preset limit of standard deviation and the allowed number of additional injections the 'accuracy' of the determination can be influenced in some range. As an increase in the maximum allowed number of injections also requires additional sample volume and time for analysis, each system is usually 'optimized' for the special requirements and conditions of the individual laboratory. This procedure of eliminating values with major contribution to standard deviation helps to minimize scattering of results, which may be caused by numerous external 'environmental' factors in the laboratory (e.g. electronical problems, influence of air conditioning systems, etc) and leads to highly reproducible values.

For the evaluation of the interlaboratory study it is assumed that reported results of HTC methods are all valid numbers from single injections of the sample (except those marked as invalid by the reporting laboratory itself). The mean values for the TN concentration in

the four samples calculated from the results of this group of laboratories are slightly lower than those calculated for all laboratories or those laboratories applying the Koroleff method (Tab. 1).

On the level of 5% probability value, the difference between Koroleff and HTC methods is significant for samples A and C. It must be noticed however, that – differing from those indicated in Annex Tab. 2 - some laboratories are included or excluded in this test on the basis of the separate evaluation of both groups according to DIN ISO 5725 (see Annex Fig. A1 & A2). The results are not necessarily the same if only those laboratories were excluded that are marked in Annex Tab. 2.

It was sometimes postulated in the past that those methods producing higher values for TN are the 'correct' methods, because higher values should be a proof for a more complete conversion of nitrogenous compounds into the detectable reaction product. However, in some within laboratory comparisons or in interlaboratory studies it was found that UV – methods sometimes produce even higher numbers than Koroleff method (Westernströer (1999), Sharp et al (2002b)). As on the other hand UV – methods had been suspected to perform 'incomplete' digestion, these results do not correspond with the above mentioned postulate and lead to a discussion about possible 'errors' in all methods which may cause overestimation of TN concentrations in some cases (Wangersky (2000), Sharp (2002d)).

There are some laboratories that report results always higher or lower than the mean calculated from the values of all participants. It should be checked by those laboratories whether there might be a problem with 'blank' or with the standard used for calibrating the analysis. As it is difficult to find these problems without appropriate reference material it is recommended to use reference material in every analysis. For DOC – measurements it is well documented that the use of reference material can improve the 'community precision' (Sharp (2002d)). The matrix of the reference material should be as close as possible to the samples which have to be analyzed. The use of reference material prepared in artificial media (e.g. in distilled water or artificial seawater) may sometimes cause problems in finding inconsistencies in the procedure applied (for example see Aminot & Kérouel (2001)).

Although some certified 'natural' reference material is offered from QUASIMEME, the availability of appropriate materials is limited or rather expensive and may therefore not be used in the frequency recommended. As a small number of the samples prepared for this interlaboratory study are still left they can be offered to other laboratories as 'reference material' to improve their TN analysis.

Participating laboratories were asked also to report results for other parameters than TN which were measured together with TN in the same analysis. A number of laboratories stated that they usually determine concentrations of other compounds together with TN, but they do not report the results. By reporting results in an interlaboratory study one

should keep in mind that additional data can help to prevent misleading interpretation of the results. As there is no absolute guarantee that all distributed samples are free of contaminations or errors during the filling and labeling process – even if every precautions were taken to prevent this – additional data are a great help to reveal those errors. Therefore it should be the concern of laboratories to provide as much information as available in interlaboratory studies in order to allow a well founded evaluation of the results.

In the TN interlaboratory study in summer 2002 only very few additional information was reported. Measurements of DP (dissolved phosphorous) were reported only by one laboratory. Concentrations of nutrients were available from three laboratories. As some laboratories applying the HTC method for the determination of TN measure TOC simultaneously, results for TOC were reported by four laboratories (Annex Tab. A5). Because of the low number of results, no detailed discussion should be given here. It should be mentioned however that laboratories 16 and 32 use (seawater) reference material to control the performance of the analysis and instrument blank.

As a result of this interlaboratory study it should be considered whether a detailed discussion of the results – including a discussion about details of the methods applied – should be started within the quality assurance system with all (or a group of selected) laboratories participating in this interlaboratory study. It is likely from the results that some improvements in the 'community precision' can be achieved, which would require only little effort in the laboratories.

References

- Álvarez-Salgado, X A, Miller, A E J (1998); Simultaneous determination of dissolved organic carbon and total dissolved nitrogen in seawater by high temperature catalytic oxidation: conditions for precise shipboard measurements; *Mar. Chem.* 62: 325 – 333
- Aminot, A. and Kérouel, R. (2001); An automated photo-oxidation method for the determination of dissolved organic phosphorus in marine and fresh water; *Mar. Chem.* 76: 113 - 126
- Hansell, D. A. (2001); The good, the bad and the ugly: Are my DOC results any good? *U.S. JGOFS Newsletter* 11(2): 14 - 15
- Kjeldahl, J (1883); Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern; *Z. Anal. Chem.* 22: 366 - 382
- Koroleff, F (1983); Total organic nitrogen; in : K. Grasshoff, M. Erhardt, K. Kremling (eds.); *Methods in seawater analysis*; Verlag Chemie 1983; pp 162 - 173
- Sharp, J H, Carlson, C A, Peltzer, E T, Castle-Ward, D M, Savidge, K B, Rinker, K R (2002a); Final dissolved organic carbon broad community intercalibration and preliminary use of DOC reference materials; *Mar. Chem.* 77: 239 - 253
- Sharp, J H, Rinker, K R, Savidge, K B, Abell, J, Benaim, J Y, Bronk, D, Burdige, D J, Cauwet, G, Chen, W, Doval, M D, Hansell, D, Hopkinson, C, Kattner, G, Kaumeyer, N, McGlathery, K J, Merriam, J, Morley, N, Nagel, K, Ogawa, H, Pollard, C, Pujo-Pay, M, Raimbault, P, Sambrotto, R, Seitzinger, S, Spyres, G, Tirendi, F, Walsh, T W, Wong, C S (2002b); A preliminary methods comparison for measurement of dissolved organic nitrogen in seawater; *Mar. Chem.* 78: 171 – 184
- Sharp, J.H. (2002d); Analytical methods for total DOM pools; in : D. A. Hansell and Carlson, C. A.; *Biogeochemistry of dissolved organic matter*; Academic Press (2002), pp 35 - 58
- Solórzano, L. and Sharp, J. H. (1980); Determination of total dissolved nitrogen in natural waters; *Limnol. Oceanogr.* 25: 751 - 754
- Suzuki, Y, Sugimura, Y, Itoh, T (1985); A catalytic oxidation method for the determination of total nitrogen dissolved in seawater; *Mar. Chem.* 16: 83 - 97
- Wangersky, P.J. (2000); Intercomparisons and intercalibrations; in : Wangersky (ed) *Marine chemistry (Volume 5 part D of : The handbook of environmental chemistry)*; Springer Verlag Berlin, Heidelberg (2000); pp. 167 - 191
- Westernströer, U. (1999); Bestimmung von gelöstem organischen Stickstoff im Meer nach einem UV-Aufschlussverfahren. Optimierung und Vergleich mit anderen Methoden. Diplomarbeit, Fachbereich Chemieingenieurwesen der Fachhochschule Münster, Abteilung Steinfurt
- Woitke, P, Keune, H, Wellnitz, J (1999); Abschlussbericht : Ringversuch zur Zertifizierung eines Qualitätskontrollmaterials DTN, DTP, DOC; Umweltbundesamt Berlin, FG II 3.5 / Labor für Wasseranalytik

Annex Table A1 :

Alphabetical list of laboratories participating in the TN – interlaboratory study performed in summer 2002

- 1 Dorothea Altenhofen , Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft und Küstenschutz (NLWK) , Betriebsstelle Brake
- 2 Dr. Uwe Brockmann , Universität Hamburg , Institut für Biogeochemie und Meereschemie
- 3 Dr. Gustave Cauwet , Centre National de la Recherche Scientifique , Laboratoire Arago , Observatoire Océanologique , Banyuls-sur-Mer cedex (France)
- 4 Dr. Horst Gaul , Bundesamt für Seeschifffahrt und Hydrographie , Hamburg
- 5 Dr. Michael Gluschke , Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie Mecklenburg-Vorpommern , Güstrow
- 6 K.-D. Hochfeld, Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie Mecklenburg-Vorpommern , Güstrow
- 7 Dr. Gerhard Kattner , Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung , Bremerhaven
- 8 Fr. Adina Langenfeld , Niedersächsisches Landesamt für Ökologie , Hildesheim
- 9 Dr. Karin Lau , Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft und Küstenschutz (NLWK) , Betriebsstelle Cloppenburg
- 10 Helga Meyering , Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft und Küstenschutz (NLWK) , Betriebsstelle Meppen
- 11 L. Mollenhauer, Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie Mecklenburg-Vorpommern , Stralsund
- 12 Dr. Günther Nausch , Institut für Ostseeforschung , Warnemünde
- 13 Dr. Marianna Pastuszek , Sea Fisheries Institute , Department of Oceanography , Gdynia (Poland)
- 14 T. Petenati , Landesamt für Natur und Umwelt (LANU) Schleswig Holstein / Laborschiff MS 'HAITHABU'
- 15 Dr. Mireille Pujo-Pay , Centre National de la Recherche Scientifique , Laboratoire Arago , Observatoire Océanologique , Banyuls-sur-Mer cedex (France)
- 16 Dr. Gerda Rünger , Landeslabor Schleswig-Holstein , Außenstelle Kiel II
- 17 U. Schleichert , Bundesanstalt für Gewässerkunde , Koblenz
- 18 Manfred Schulze , Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft und Küstenschutz (NLWK) , Lüneburg
- 19 Uwe Schweers , Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft und Küstenschutz (NLWK) , Verden
- 20 Dr. Irmgard Voigt , Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft und Küstenschutz (NLWK) Süd , Labor Braunschweig
- 21 Ulrich Wiegel , Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft und Küstenschutz (NLWK) , Betriebsstelle Stade
- 22 Ulrich Willers , Behörde für Umwelt und Gesundheit , Amt für Umweltschutz , Hamburg
- 23 Dr. Peter Voitke , Umweltbundesamt/FG II 3.6 , Labor für Wasseranalytik , Berlin
- 24 Dr. Elke Zwirnmann , Institut für Gewässerökologie u. Binnenfischerei , Berlin
- 25 Dr. Klaus Nagel, Institut für Ostseeforschung , Warnemünde

As some of the laboratories applied more than one method for the determination of TN – concentration, 29 data sets had been reported.

Annex Table A2 :

Mean values and s. dev. reported for TN in the interlaboratory study
performed in summer 2002

All concentrations are in $\mu\text{M N}$

Analyte : TN (total nitrogen)								
Lab.No	Sample A		Sample B		Sample C		Sample D	
	mean	s.dev.	mean	s.dev.	mean	s.dev.	mean	s.dev.
1	80.08	1.11	128.50	1.27	119.85	0.35	26.59	0.80
2	25.26	1.51	111.38	6.03	22.40	0.35	25.43	0.37
3	19.30	0.11	96.54	1.74	9.15	0.09	15.33	4.15
4	26.04	1.01	109.50	2.12	24.63	0.55	21.72	0.39
5	30.15	2.49	111.94	0.95	22.65	0.55	25.30	0.11
6	26.35	0.13	116.84	0.67	23.51	0.09	24.80	0.03
7	- / -		136.00		- / -		23.60	
8	24.87	0.92	118.36	4.93	22.85	0.20	28.79	0.11
9	21.78	0.88	109.40	1.39	21.07	0.98	23.28	0.81
10	22.87	0.54	- / -		20.67	0.16	- / -	
11	85.32	0.50	- / -		119.76	3.28	27.88	1.97
12	68.18	0.51	122.45	5.59	114.25	2.05	30.70	0.00
13	26.81	2.72	106.15	6.64	22.19	1.75	23.75	1.70
14	28.50	1.51	109.00	2.00	28.90	1.61	27.53	3.00
15	25.47	0.35	101.22	2.45	23.47	0.32	21.98	0.62
16	25.78	0.69	125.80	2.06	23.40	0.66	28.38	0.61
17	23.76	0.00	100.06	0.58	21.79	0.16	23.42	0.00
18	25.22	0.01	122.25	7.00	25.15		24.52	0.15
20	21.93	0.42	115.00	0.98	27.93	1.65	23.79	0.76
21	28.83	1.16	136.28	9.65	26.84	0.14	30.81	0.60
22	30.70	0.99	105.35	0.49	30.70	0.00	32.15	1.06
23	25.66	2.47	98.55	0.19	22.37	1.48	21.77	1.08
24	25.46	0.34	111.10	0.82	23.54	0.47	25.40	0.01
26	18.87	1.28	103.63	3.05	18.20	0.22	23.59	0.37
27	36.85	7.64	114.75	0.45	44.38	2.44	33.67	5.42
28	22.90	0.00	95.00	3.26	21.23	0.67	30.35	0.40
30	24.72	0.24	107.16	5.39	22.87	0.61	24.89	1.21
31	23.01	1.26	85.53	14.61	20.36	1.29	22.63	0.84
32	24.30	0.28	97.90	1.84	21.85	0.35	24.15	0.64

Annex Table 2 : (continued)

Lab.No	Sample A		Sample B		Sample C		Sample D	
	mean	s.dev.	mean	s.dev.	mean	s.dev.	mean	s.dev.
mean	31.03		110.95		33.78		25.58	
S.D.	17.06		12.33		30.22		3.84	
%cv	54.96		11.12		89.44		15.01	
mean *)	25.42		110.95		23.68		25.58	
S.D. *)	3.73		12.33		5.86		3.84	
%cv *)	14.69		11.12		24.76		15.01	
mean **)	25.57		110.95		23.42		25.19	
S.D. **)	2.87		10.54		2.89		3.61	
%cv **)	11.67		9.50		12.35		14.50	

*) summary statistics calculated without the six values in bold and italics. Reasons for selecting these six numbers are discussed in the text (see #3.4)

**) summary statistics calculated without the data in bold or in bold and italics. Numbers in bold are rejected by the evaluation process according DIN ISO 5725 because of too large within laboratory variance (9 numbers) and/or too large systematic error in the level of test results (1 number).
if s.dev. is missing, only a single value is reported

Annex Table A3 :

Initial characterization of samples collected for the TN – interlaboratory study

	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D
collection area	Baltic Sea eastern Gotland Basin (Stat. TF0271)	inshore lake Klein Kölzig (near Cottbus)	western Baltic Sea (Stat. TF0361)	sample prepared in laboratory
matrix	seawater (lower salinity)	lake water	seawater (higher salinity)	Creatinin in MQ - water
salinity	12.02		22.73	
concentrations ¹⁾				
NO ₂ / NO ₃	0 ²⁾	6.23	7.41	
NH ₄	20.18	131.4	1.20	
DN (UV – AAN)	⁴⁾	162.88	⁴⁾	
DN (HTC)	29.92		18.04	24.19 ³⁾
PN	1.99		2.81	
TN	31.91		20.05	24.19 ³⁾
DOC	283.2	⁴⁾	162.8	32.25 ³⁾
POC	9.8	⁴⁾	33.2	

¹⁾ concentrations in µmol / l N or C, respectively

²⁾ sample taken from anoxic water layer

³⁾ calculated from weighted pure substance

⁴⁾ no data available

Annex Table A4 :

Concentrations in $\mu\text{M N}$ ($\mu\text{M C}$ for DOC) measured in the samples in spring 2002
shortly after filling the ampoules

Measurements are performed by the laboratory of the institute organizing the
exercise

Parameter	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D
$\text{NO}_2 / \text{NO}_3$ ¹⁾	11.25 (± 0.12)	3.13 (± 0.26)	8.17 (± 0.13)	
NH_4 ¹⁾	1.56 (± 0.46)	102.2 (± 2.00)	4.46 (± 0.55)	0.36 (± 0.08)
DN (UV – AAN) ²⁾	24.72 (± 0.24)	107.2 (± 5.39)	22.87 (± 0.61)	24.89 (± 1.21)
DN (HTC) ³⁾	23.01 (± 1.26)	85.53 (± 14.61)	20.36 (± 1.29)	22.63 (± 0.84)
DN (HTC – hybrid system) ⁴⁾	24.30 (± 0.28)	99.20 (± 1.84)	21.85 (± 0.35)	24.15 (± 0.64)
DOC	250.3 (± 10.95)	67.7 (± 4.90)	175.9 (± 8.85)	38.9 (± 4.70)

¹⁾ standard AutoAnalyzer protocol

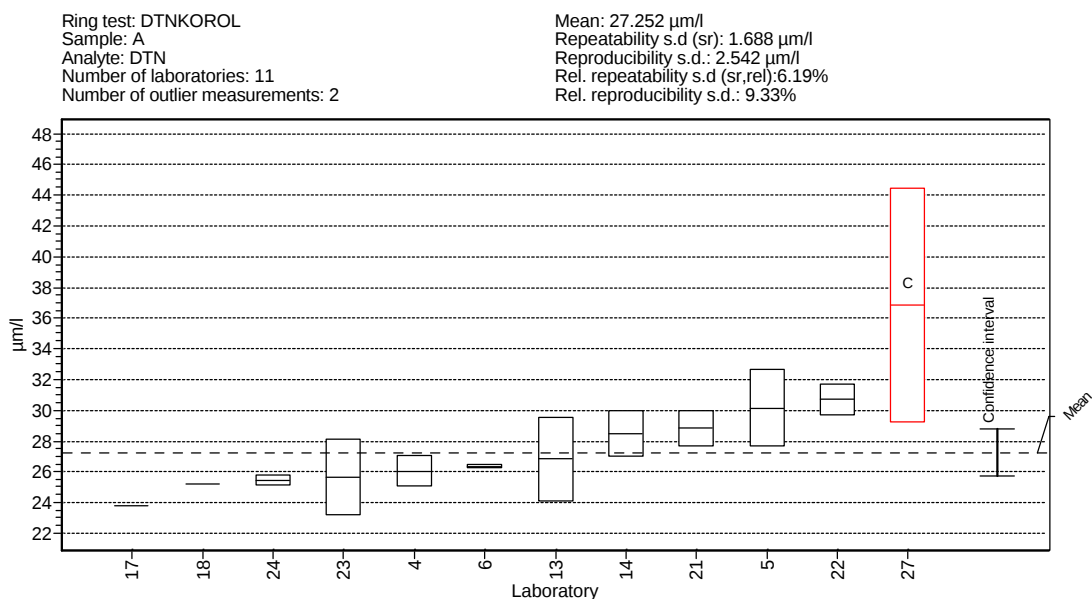
²⁾ online UV digestion / CFA (Skalar 'San-plus-System)

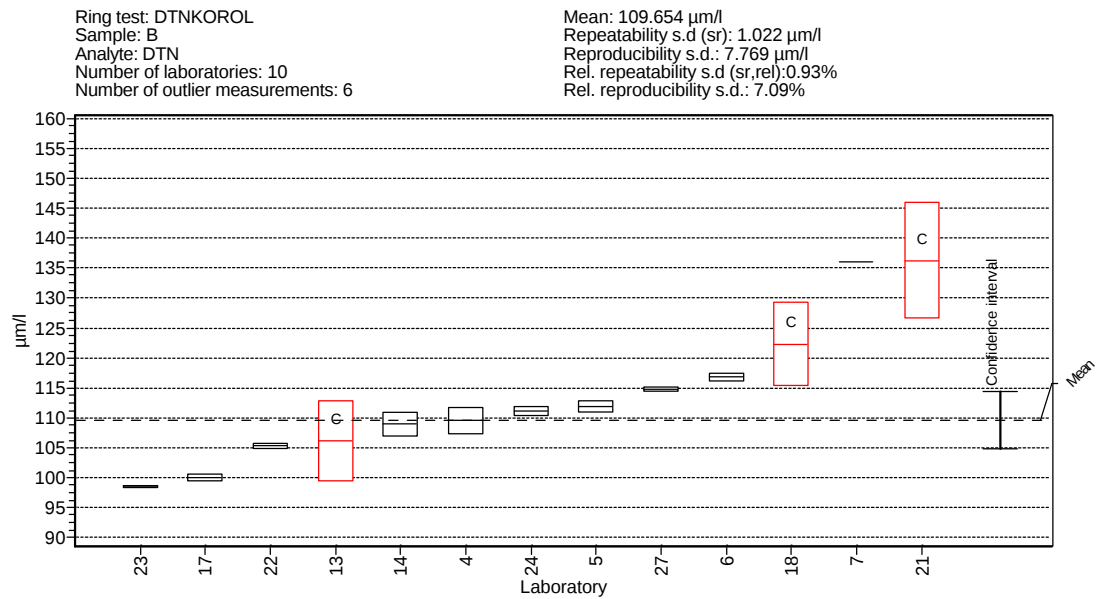
³⁾ HTC – method performed on Skalar Formacs^{HT} TN – Analyzer / Skalar ND10 Detector

⁴⁾ HTC – method performed on Shimadzu TOC5000 TOC- Analyzer / Skalar ND10 Detector

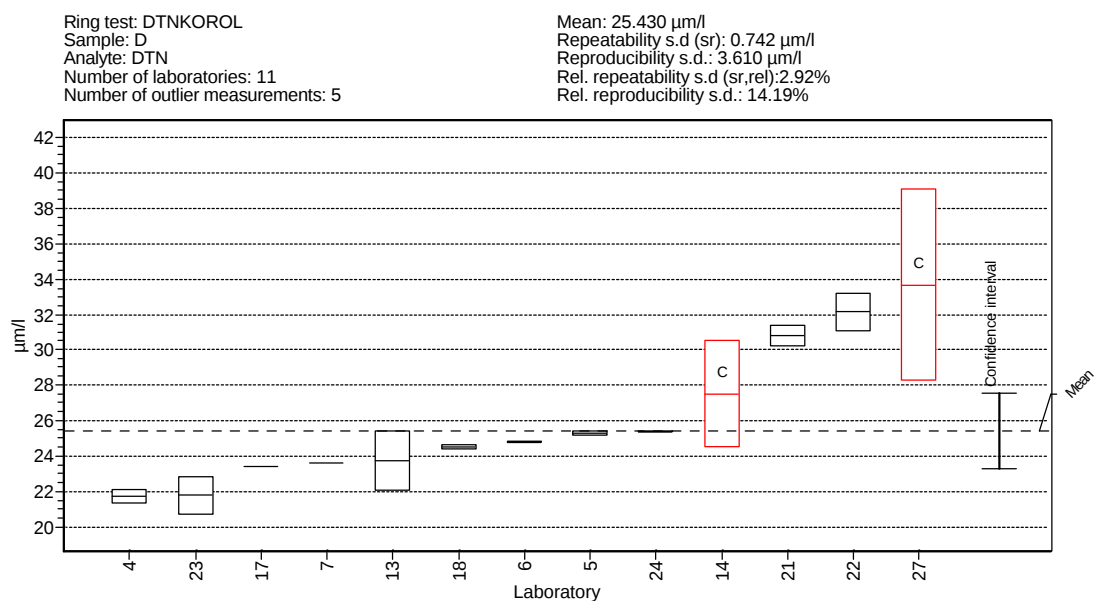
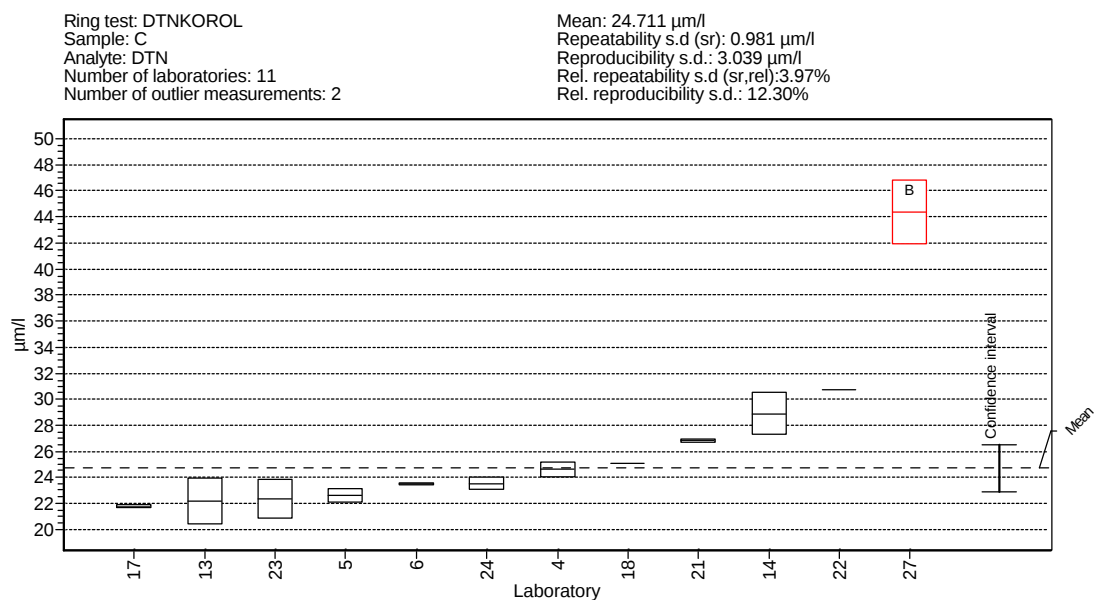
Annex Fig. A1 :

Evaluation of the TN – interlaboratory study in summer 2002 -
Evaluation based only on results obtained by wet digestion methods ('Koroleff – digestion')
(but without Koroleff – digestion / direct UV determination of nitrate !)
Graphs are produced with the program PROLAB98 (Dr. Uhlig, quo data, Dresden) by Dr. P.
Woitke and Dipl.-Ing. J. Wellnitz (FG II 3.5, Umweltbundesamt Berlin)





Annex Fig A1 : (continued)

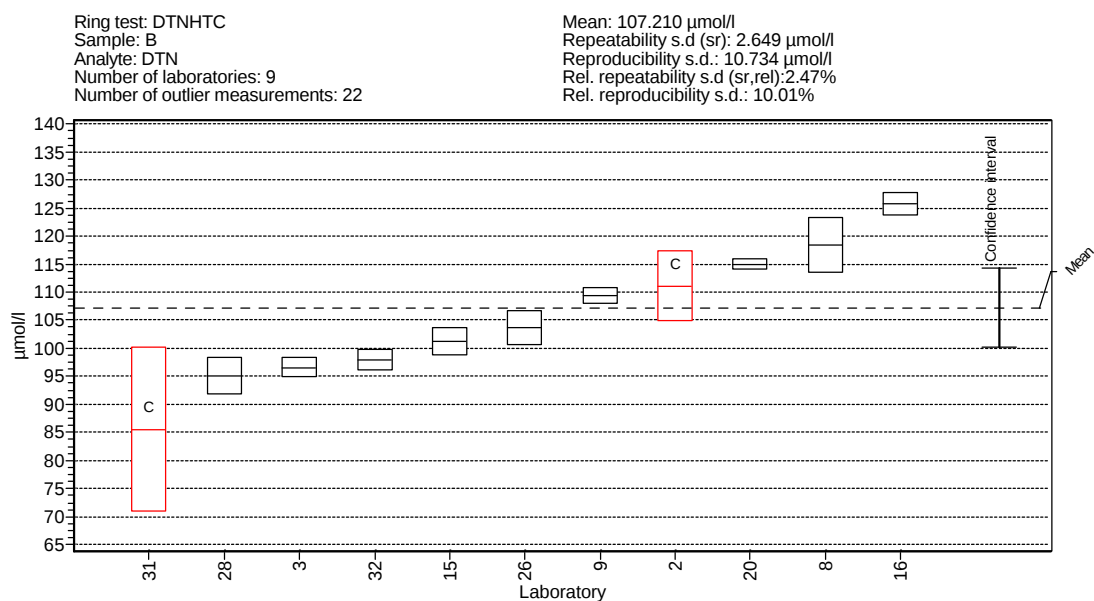
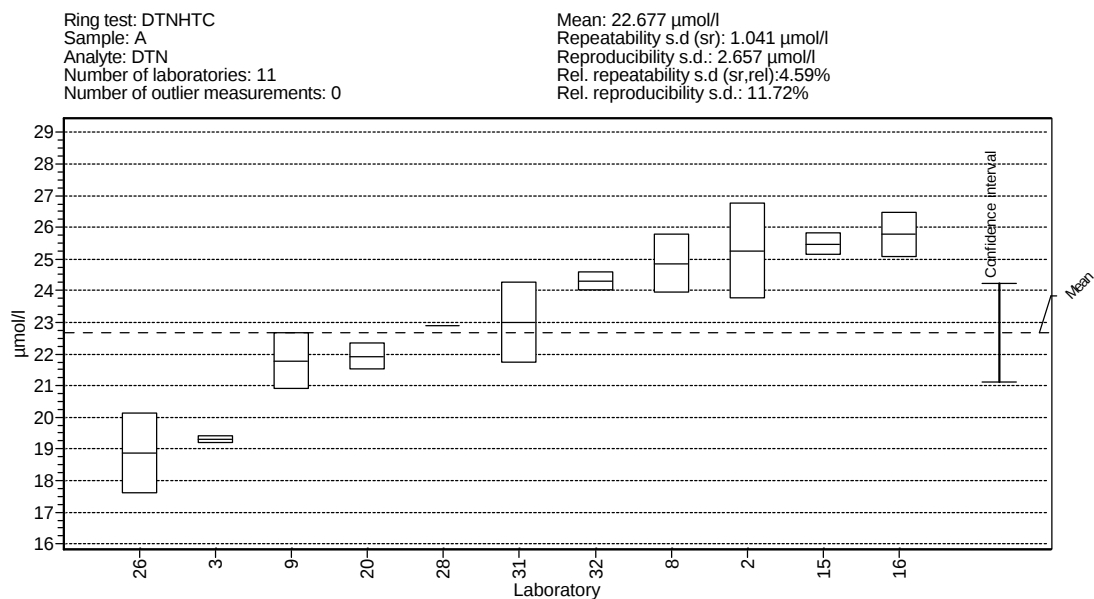


Annex Fig. A2 :

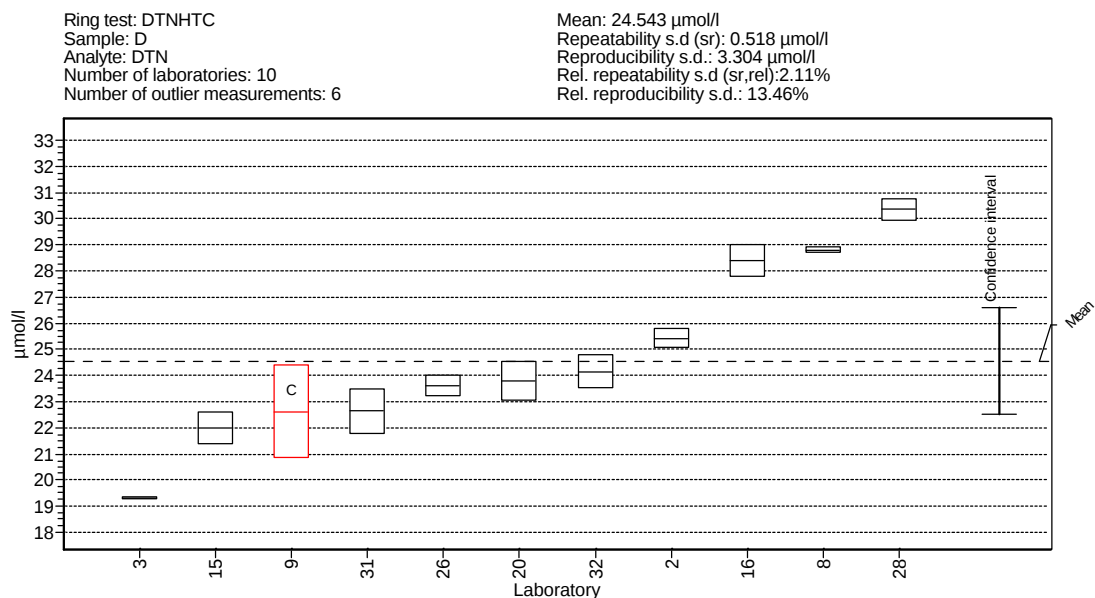
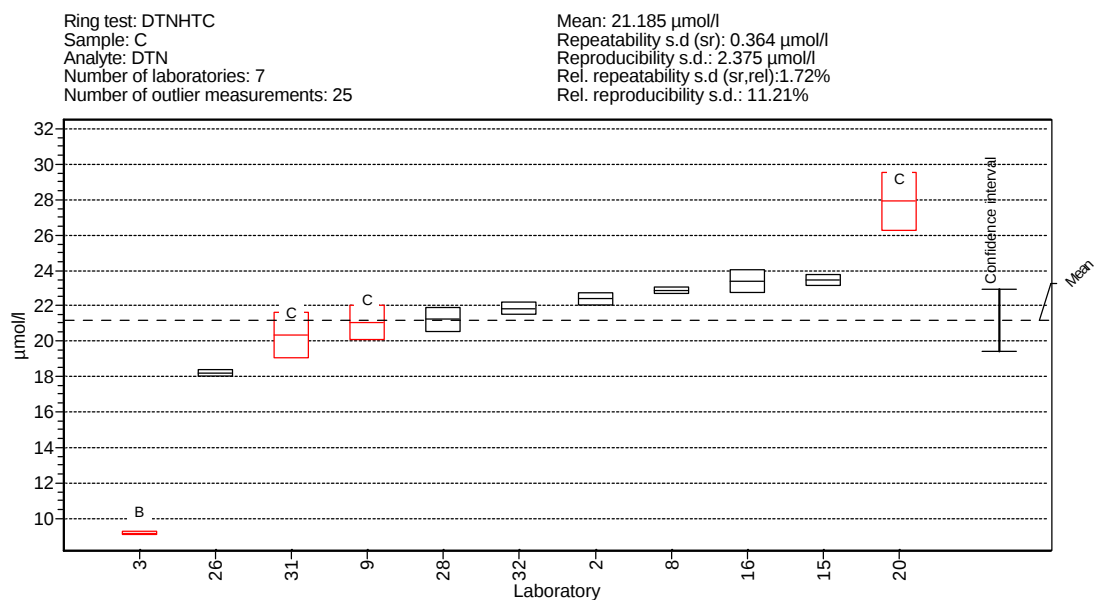
Evaluation of the TN – interlaboratory study in summer 2002

Evaluation based only on results obtained by the laboratories applying HTC methods !

Graphs are produced with the program PROLAB98 (Dr. Uhlig, quo data, Dresden) by Dr. P. Woitke and Dipl.-Ing. J. Wellnitz (FG II 3.5, Umweltbundesamt Berlin).



Annex Fig. A2 : (continued)



Annex Table A5 :

Mean values and s. dev. reported for TOC in the TN – interlaboratory study performed
in summer 2002
All concentrations are in $\mu\text{M C}$

Analyte : TOC (total organic carbon)								
Lab.No	Sample A		Sample B		Sample C		Sample D	
	mean	s.dev.	mean	s.dev.	mean	s.dev.	mean	s.dev.
3	294.2	24.7	83.1	5.5	197.9	7.6	51.1	27.4
16	248.4	2.5	73.3	3.3	177.0	3.3	36.7	0.8
26	227.0	4.7	60.5	3.2	151.1	3.1	34.6	3.9
32	250.3	11.0	71.1	4.9	175.9	8.8	35.5	4.7