

Totalphosphor (TP) im Sediment

Der gesamte im Sediment vorliegende Phosphor besteht aus zahlreichen sehr unterschiedlich zugänglichen Fraktionen. Leicht verfügbar ist das Phosphat im Interstitialwasser. Mengenmäßig spielt der aber eher eine untergeordnete Rolle. Phosphor ist nicht so leicht verfügbar, wenn er organisch gebunden ist, z. B. in bzw. an Biomasse oder Detritus. Sehr schwer zugänglich sind einige Salze, die sich nur im anoxischen Milieu auflösen, an Tonminerale und andere anorganische Partikel adsorbierte Phosphationen.

Große Teile des gebundenen Phosphats werden in saurem Milieu (HCl, HNO₃ oder H₂SO₄) und ggf. unter Zugabe starker Oxidationsmittel (H₂O₂ oder Persulfat) freigesetzt. Die Verwendung von Aschen anstelle der Trockenmassen verbessert oft die Aufschlussausbeuten. Die dabei stattfindende Bildung von Goethit erschwert jedoch die Neutralisation (Farbumschlag nicht sichtbar). Auch andere schwer lösliche anorganische Salze erschweren den P-Nachweis. Phosphationen reagieren in saurer Lösung mit Molybdat zu Molybdänblau. Molybdänblau wird photometrisch quantifiziert. Die mit Phosphat unlösliche Verbindungen eingehenden Metallionen, Eisen, Calcium und Aluminium, können aus demselben Sedimentaufschluss bestimmt werden.

Hohe Phosphatkonzentrationen verstärken Eutrophierungsprozesse, weil in den häufig dann anoxischen Sedimenten viel Phosphat mobil ist und auch in die Wassersäule zurück gelangen kann. TP im Sediment ist der grundlegende Parameter, der die Gesamtbelastung mit Phosphor anzeigt. Allerdings kann man kaum Rückschlüsse über dessen Verfügbarkeit für das Phytoplankton ziehen.

Notwendige Sedimentparameter:

- Wassergehalt und Glühverlust der Sedimentproben ermitteln!
- Für einen Flächen- oder Volumenbezug wird auch die Trockenraumdichte gebraucht. Alternativ kann aus einer Korrelation zwischen Wassergehalt und Trockenraumdichte letztere abgeschätzt werden (Berthold et al. 2018).

Probenvorbereitung:

- Sedimente und Böden durch ein 2 mm Sieb sortieren. Die < 2 mm Fraktion verwenden.
- Mahlen: Die Reproduzierbarkeit wird besser. Allerdings wird das Ergebnis der Elementverfügbarkeit für Böden und Sedimente beeinflusst. Die Empfehlungen zu den Mühlen, der Mahlzeit, dem Energieeintrag sind äußerst vielfältig und müssen den Proben angepasst werden.
- Veraschen: Der Vorteil besteht in der besseren Zugänglichkeit der organisch gebundenen Phosphate (organische Verbindungen sind verbrannt). Allerdings formen sich auch anorganische Bestandteile um. Es bildet sich z. B. rötliches Goethit, was Eisen bindet und die Messungen stören kann. Fest gebundene Salze, z. B. Ca₃(PO₄)₂, bleiben ebenfalls weitgehend unzugänglich.

1 Persulfataufschluss

Durchführung:

- *Die saure Persulfatlösung schließt Sedimentaschen deutlich besser auf als die basische oxidative Aufschlüsse und oft auch besser als die Salzsäure.*
- Pro Sediment 4 Replikate ansetzen. Restliche **Asche** rückstellen, bis die Ergebnisse vorliegen.
- Ca. 50 (Schlick) - 100 mg (Sand bzw. mineralisch) der Asche (550°C, 4 h) in Reagenzgläser mit Schliffstopfen einwiegen.
 - Wägeschälchen oder kleine Stücke Aluminiumfolie: Tara.

- ca. 50 - 100 mg Asche einfüllen und in Röhrchen füllen.
- Verbleibenden Staub auf dem Schälchen auswiegen. Masse von der Einwaage abziehen. Korrigierte Einwaage notieren!
- Wägeschälchen auswischen. Tara.
- 10 ml Reinstwasser zugeben, gut schütteln,
- 1 ml saure Persulfatreagenz zugeben.
- Geschlossene Röhrchen bei 90°C für 24 h im Trockenschrank inkubieren.

Aufarbeitung:

- Proben müssen nicht neutralisiert werden, wenn sie nicht filtriert werden müssen (fein gemahlenes Material), sofort manuell aufgemessen (nicht im Continuous Flow Analyser) und auch keine Rückstellproben in PE-Tubes aufbewahrt werden (s. u.).
 - *ohne Neutralisation:*
 - Proben abkühlen lassen, aber spätestens nach 2 h weiter bearbeiten.
 - Lösung komplett in einen 50 ml Maßkolben überführen und mit Reinstwasser bis zum Eichstrich auffüllen.
 - *mit Neutralisation:*
 - Sollen die Proben am CFA Autoanalyser ausgewertet oder in Plastikmaterial aufbewahrt (auch nur kurze Zeit) werden, muss die Probe pH neutral sein. Diese Proben können auch längere Zeit lagern.
 - Dafür Proben abkühlen lassen, aber spätestens nach 2 h weiter bearbeiten.
 - Lösung komplett in einen 50 oder 100 ml Maßkolben überführen und mit einigen ml Reinstwasser nachspülen.
 - 3-5 Tropfen Nitrophenollösung zugeben, tropfenweise soviel 1 N NaOH zugeben (max. 4 ml), bis die Lösung leicht gelb wird und auch nach gründlichem Umschütteln gelb bleibt.
 - Mit 1 N HCl aus einer Bürette pH bis zum Farbumschlag nach farblos titrieren.
 - Bis zum Eichstrich auffüllen.
 - *mit Filtration:*
 - Zum Schutz der Filtrationsapparate nur mit neutralisierten Proben!
 - Sollten viele Sedimentpartikel in Suspension bleiben, sind die Trübungsblindwerte zu hoch und zu variabel. Probe durch Glasfaserfilter filtrieren. VORSICHT: Flüssigkeit stark ätzend!
 - Für den CFA auf jeden Fall filtrieren.
 - Gut geeignet sind Mehrfachfiltrationsgestelle, die das Filtrat in 50 ml PE-Tubes befördern (Abb. 1).
 - Proben mit sehr hohem Eisengehalt bilden bei der Veraschung Goethit (Abb. 2). Das stört etwas die Titration, verursacht eine Trübung und schließt evtl. auch Phosphat ein, so dass es nach Filtration nicht mehr nachweisbar ist.



Abb. 1. Mehrfachfiltrationsgestell mit Einsatz für 50 ml Tubes (Eigenbau Universität Rostock) mit a) vergrößerten Filtrieraufsätzen (hier aus Messing), b) Filtersupport aus Stahl, c) handelsüblicher Glasfaserfilter, d) Teflonhahn, e) 50 ml PE-Zentrifugenröhrchen in PVC-Gestell, f) extra hohem Evakuiergefäß und g) Schlauch zur Vakuumpumpe.

- *Weiterverarbeitung:*
 - CFA: 2x 20 ml Vials füllen und einfrieren. Rest verwerfen.
 - manuell: 50 ml in Plastiktubes abfüllen.
 - Danach 15 ml entnehmen (ohne Schütteln, Partikel konnten aussinken), in 25 ml Erlenmeyerkolben überführen, wie bei Phosphat weiterarbeiten (+ 0,15 ml Ascorbinsäure + 0,3 ml Molybdatmischreagenz).
 - Ab Extinktionen von 0,8 in einer 5 cm Küvette, abreagierte Probe verwerfen und mit verdünnter Probe neu beginnen.
 - Pragmatisch verdünnen: leicht erhöhte Ergebnisse (Extinktionen um 0,8) mit 1 Teil Probe (5 ml) und 2 Teilen (10 ml) Reinstwasser neu ansetzen (5 ml Eppendorfpipette, 1:3), ab Extinktionen von 1: 1 Teil Probe (3 ml) und 4 Teile Wasser (4 mal 3 ml) arbeiten (1:5), ab Extinktionen > 1,5 kann 1+9 verdünnt werden (1,5 ml Probe + 9 mal 1,5 ml Wasser, 1:10).



Abb. 2. Eisenhaltige Aschen im sauren Persulfataufschluss (Goethit)

Berechnung:

- Ergebnis der photometrischen Messung um alle Verdünnung korrigieren.
 - z. B. 10 ml Wasser nach Neutralisation auf 50 ml = x 5
 - und weitere Verdünnung vor der Messung z. B. 5 ml + 10 ml = x 3
- Kalibrierfaktor aus der Phosphatmessung übernehmen.
- Zurückrechnen auf die Stoffmenge im Aufschluss:

- Aus Konzentration der photometrischen Bestimmung (c_{ML}) die Stoffmenge in den 50 ml neutralisierten Aufschluss (n_{NA}) berechnen.
- Diese Stoffmenge war in der eingewogenen Asche (in g) enthalten. Die Asche-Einwaage auf Trockenmasse zurück rechnen.
- Normalisiert über die (berechnete) Trockenmasse-Einwaage ergibt das die Konzentration c_s in $\mu\text{mol P g TM}^{-1}$.
- Umrechnung in mg P g TM^{-1} durch $\times 31$ (molare Masse von P) und $\div 1000$ (Umrechnung μg zu mg)

$$n_{ML} = \frac{c_{ML} \cdot 50}{1000} = n_{NA}$$

$$E_{TM} = \frac{E_A(\text{g}) \cdot 100\%}{GR(\%)}$$

$$c_s = \frac{n_{NA}}{E_{TM}(\text{g})}$$

c_{ML} : Konzentration der Messlösung

n_{ML} : Stoffmenge der 50 ml Messlösung ist gleich

n_{NA} : der Stoffmenge des Aufschlusses, wenn keine Unterproben entnommen und verdünnt wurden.

E_{TM} : Einwaage (g Trockenmasse)

E_A : Einwaage der Asche (g)

GR: Glührückstand (%)

c_s : Konzentration in der Sedimenttrockenmasse

Literatur:

modifiziert nach: Hansen HP, Koroleff F (1999) Determination of total phosphor by alkaline persulfate oxidation. In: Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (eds). Methods of seawater analysis. Verlag Chemie, Weinheim, 3. Ed. 159-228

Berthold M, Zimmer D, Reiff V, Schumann R (2018) Phosphorus contents re-visited after 40 years in muddy and sandy sediments of a temperate lagoon system. Front Mar Sci 5: Article 305

Berthold M, Zimmer D Schumann R (2015) A simplified method for total phosphorus digestion with potassium persulphate at sub-boiling temperatures in different environmental samples. RMB 25:7–25

Qualitätssicherung:

- Eine Serie von 50 Röhrchen lässt sich gut auch mit Neutralisationsschritt bearbeiten.
- Je Aufschlussserie 2 - 5 Blindwerte mitführen. Diese kontrollieren auch Einflüsse der Lagerung insbesondere der sauren Proben.
- 2 externe $10 \mu\text{M}$ Diphenylphosphat-Standards (Ausbeute) und ggf. zusätzliche Glucose-6-Phosphat-Standards (Prüfung aller Verdünnungsschritte) mit aufschließen: 10 ml Standardlösung in Reagenzgläser ohne Sediment füllen. Ebenfalls mit Persulfat versetzen.
- Werden höhere Gesamtverdünnungen eingeplant bei sehr hohen P-Konzentrationen in der Asche und kann die Einwaage nicht weiter verringert werden (Genauigkeit der Waage, bei Überführen usw.), sollten die Standards genauso verdünnt werden. Damit diese jedoch nicht in die Nähe der Bestimmungsgrenze rücken, müssen höher konzentrierte Standards (20 oder $50 \mu\text{M}$) eingesetzt werden.
- Mindestens einen Sediment- oder Bodenstandard mitführen (P-Campus, laboreigen oder zertifiziert, z. B. NIST).
- Blind- und Sollwertzielkarten anlegen und zeitnah führen. Spannweitenzielkarte führen.

Chemikalien:

- Reinstwasser soll entionisiertes silikatroies Wasser sein. Molybdat reagiert auch mit Silikat, was aus bestimmten Gläsern oder Ionenaustauschern stammt. Die Messung natürlicher (geringerer) Silikatkonzentrationen wird durch die Messbedingungen unterdrückt. Deshalb soll das Reinstwasser aus silikatroien Ionenaustauschern verwendet werden, das z. B. aus dem Rostocker Kraftwerk bezogen werden kann ("Kraftwerkswasser").
- Persulfatlösung: 25 g Kaliumperoxodisulfat ($K_2S_2O_8$ stickstoffarm), 15 g Borsäure und 7,5 g Natriumhydroxid unter Rühren in einem 500 ml mit ca. 400 ml unter Rühren lösen. Auf 500 ml auffüllen.
- **saure Persulfatlösung: 5 ml 9 N H_2SO_4 (50%ig) auf 100 ml mit Reinstwasser verdünnen. 5 g Kaliumperoxodisulfat ($K_2S_2O_8$ stickstoffarm) darin auflösen. Lichtgeschützt bei Raumtemperatur nur ca. 1 Woche haltbar. Wenn Persulfat ausgefallen ist, neu ansetzen.**
- 1 N HCl: 83 ml 37%ige HCl zu ca. 750 ml in einem 1 l Maßkolben geben. Nach Abkühlen auf 1 l auffüllen.
- Molybdat-Reagenz: 100 g Ammoniumheptamolybdat ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4 H_2O$) in 1 l Kraftwerkswasser lösen. Mehrere Monate haltbar.
- Antimon-Reagenz: 2,7 g Antimonyl-kalium-tartrat ($(SbO)KC_4H_4O_6 \cdot \frac{1}{2} H_2O$) in 200 ml 50%iger Schwefelsäure lösen. Mehrere Monate haltbar.
- Misch-Reagenz: 12,5 ml Mo-Reagenz, 36,5 ml 50%ige Schwefelsäure und 1 ml Antimon-Reagenz mischen. Nimmt das Misch-Reagenz eine blaue Farbe an, muss es neu angesetzt werden.
- 50%ige Schwefelsäure: Gleiche Volumina Kraftwerkswasser und konzentrierter Schwefelsäure vorsichtig unter Umrühren mischen (Hitzeentwicklung! Stark ätzend! Auffangschale!).
- Ascorbinsäure-Reagenz: 8 g Ascorbinsäure in 100 ml Kraftwerkswasser lösen. In dunkler Flasche aufbewahrt 1 - 2 Wochen haltbar. Verfärbt sich leicht!!!

2 Salzsäureaufschluss

- ca. 100 mg Trockenmasse einwiegen (siehe oben),
- in 100 ml Erlenmeyerkolben füllen,
- 25 ml 1N HCl und Siedesteine zugeben,
- mit wassergefüllten Kühlbirnen (Abb. 3) abgedeckt 15 min auf einer Heizplatte kochen,
- mit Reinstwasser auf 50 ml in Maßkolben auffüllen,
- nach Abkühlen Probe durch Glasfaserfilter filtrieren (vgl. oben),
- In ein Rotdeckelröhrchen oder 50 ml Erlenmeyerkolben 15 ml Proben geben und den Phosphatnachweis probieren (0,15 ml saure Ascorbinsäure + 0,3 ml Molybdatmischreagenz), (weiter wie oben).



Abb. 3. 100 ml Erlenmeyerkolben mit Sedimentaufschluss in HCl auf einer Kochplatte und mit wassergefüllter "Kühlbirne" als Kondenswasserfalle.

Berechnung:

$$c_s = \frac{c_{ML} \cdot 0,05l}{E_{TM}(g)}$$

Abkürzungen wie oben.

Qualitätssicherung:

- wie oben.

Literatur:

Andersen, J. M. (1976): An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. Wat. Res. 16, 119-126.

Nausch, G. (1981): Die Sedimente der Darß- Zingster Boddengewässer- Zustandsanalyse und Stellung im Phosphorkreislauf. Dissertation, Universität Rostock.