

BaPS, ein neues anwendungsnahes Verfahren zur Bilanzierung von gebietsspezifischen Stickstoffumsetzungsprozessen

K. BUTTERBACH-BAHL und P. VON UNOLD

Abstract

A new method (Barometric Process Separation: BaPS) was developed for the quantification of gross nitrification rates and denitrification rates in oxic soils using intact soil cores incubated in an isothermal gas tight system. Gross nitrification rates and denitrification rates are derived from measurements of changes in air pressure and of O₂ and CO₂ concentrations in the system.

The advantage of BaPS is that disturbance of the soil system is minimized as compared to other methods such as the use of gaseous inhibitors (e.g., acetylene) and/or application of ¹⁵N compounds to the soil. In addition, measurements of gross nitrification rates can be done in less than 12 hours, which is remarkable faster than the ¹⁵N-Method. Furthermore, the BaPS methods needs essentially less accessories and no chemicals are necessary. This paper describes the theoretical considerations and results obtained for rates of nitrification and denitrification using BaPS. The suitability of BaPS as a method for determination of gross nitrification is demonstrated by validation experiments using the ¹⁵N-pool dilution technique.

Einleitung

Die Barometrische Prozess-Separation (BaPS) ist eine neue Methode, mit der Raten der zentralen mikrobiellen N-Umsetzungsprozesse Nitrifikation und Denitrifikation in organischen und mineralischen Böden bestimmt werden können. Nitrifikation und Denitrifikation sind von zentraler Bedeutung für den N-Kreislauf in Böden (Abbildung 1). Insbesondere der Nitrifikation kommt im Landschaftshaushalt eine zentrale Rolle zu, da sie der einzig quantitativ bedeutsame Pro-

zess der Nitrat-Produktion im Boden ist (SCHLEGEL 1992). Bisher steht zur Erfassung der Nitrifikation nur ein sehr aufwendiges Verfahren, die ¹⁵N-Pool Dilution Technik, zur Verfügung (z.B. MO-SIER und SCHIMEL 1993, DAVIDSON et al. 1992).

Nitrat ist von hoher Umweltrelevanz, da der darin enthaltene Stickstoff einerseits ein Makronährelement für Pflanzen ist und Nitrat andererseits als Schadstoff das Grund- und Trinkwasser belastet. Es ist bekannt, dass Nitratflüsse unter landwirtschaftlichen Nutzflächen, als Folge der Düngung, heute die wichtigste Quelle der Nitratbelastung des Grundwassers und damit unserer Trinkwasserversor-

gung darstellen. Die messtechnische Bestimmung der Stofflasten und -Frachten (v.a. Nitrat) ist jedoch problembehaftet. Dieser Bestimmung kommt jedoch in der täglichen Praxis eine Schlüsselrolle zu, um über „richtige“ Düngung und Bewässerung zeitnah zu entscheiden. Auch aus dieser Sicht könnte ein schnelles und sensibles Verfahren zur Bestimmung von Nitrifikationsraten eine wichtige Rolle spielen, da sich hiermit die potentielle Gefahr der Nitrat-Auswaschung quantifizieren ließe.

Mit dem am Fraunhofer Institut für Atmosphärische Umweltforschung (IFU) entwickelten, patentierten Verfahren der barometrischen Prozessseparation

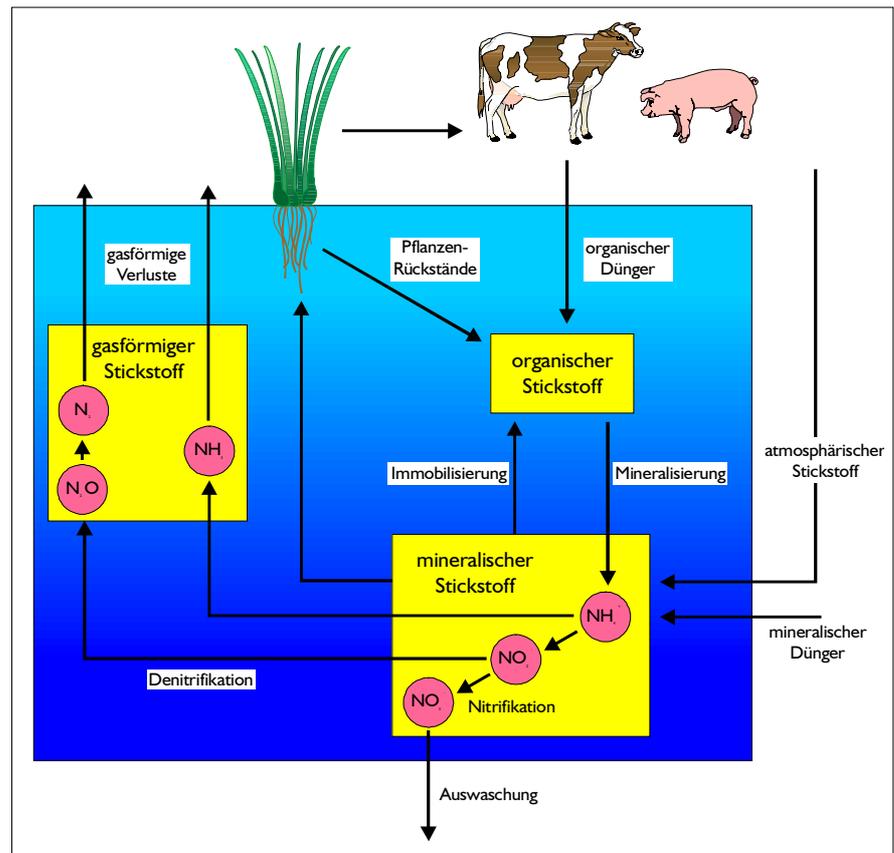


Abbildung 1: Stickstoff-Kreislauf in Böden (Verändert nach ROWELL, 1997).

Autoren: Dr. Klaus BUTTERBACH-BAHL, Fraunhoferinstitut für Atmosphärische Umweltforschung (IFU), D-82467 GARMISCH-PARTENKIRCHEN und Dipl.-Phys. Patrick VON UNOLD, Umweltanalytische Mess-Systeme GmbH (UMS), Gmundnerstraße 37, D-81379 MÜNCHEN

(INGWERSEN et al. 1999), das eine einfache und zuverlässige Bestimmung der Brutto-Umsatzraten ermöglicht, ist eine Untersuchung und Überwachung der Stickstoffumsätze im Boden durchführbar. Dabei werden ungestörte Bodensäulen (Stechzylinderproben) in einen gasdichten und isothermen Prozess-Behälter gestellt und die Nitrifikation und die Denitrifikation durch die Messung des atmosphärischen Druckes und der Änderungen der Gasmengen an O_2 und CO_2 bestimmt.

Da die Messung vergleichsweise schnelle Ergebnisse liefern kann (innerhalb von 6 bis 12 h), können somit aktuelle Raten von mikrobiellen N-Umsatzraten im Boden bestimmt und als eine Grundlage zur Ausarbeitung von z.B. Düngempfehlungen genutzt werden. Dies würde wesentlich zu einer Optimierung des Stickstoff-Düngemittelsatzes und letztendlich zur Reduktion der Nitratbelastung des Grundwassers beitragen.

Messmethoden zur Bestimmung von Nitrifikationsraten in Böden

^{15}N -pool dilution Technik

Die ^{15}N -pool dilution Technik beruht auf der Einbringung von ^{15}N markiertem Nitrat in den Boden und dem anschließenden Nachweis der zeitabhängigen graduellen Verdünnung des ^{15}N -Nitrat-Pools aufgrund der Nachlieferung von Nitrat über Nitrifikation (^{15}N pool dilution technique) (z.B. MOSIER und SCHIMEL 1993, DAVIDSON et al., 1992). Aufgrund des Einsatzes von ^{15}N und des erforderlichen massenspektrometrischen Nachweises von ^{15}N ist dieses Verfahren sehr teuer und zeitaufwendig (Gerätekosten, Kauf der markierten Substanzen, erforderliche Replikation der Versuche, Aufarbeiten der Proben). Zudem sind im Zusammenhang mit der ^{15}N -Technik folgende Probleme zu bedenken:

1. Eine Homogenisierung des Bodens ist zur Erreichung einer gleichmäßigen Substanzverteilung des gelabelten Nitrats im Boden anzustreben, wodurch das natürliche Bodenaggregatgefüge zerstört werden kann.

2. Zugabe von ^{15}N markiertem Nitrat in den Boden kann zu einer Stimulierung der mikrobiellen N-Umsatzprozesse führen.

3. Durch den im Boden vorhandenen internen mikrobiellen N-Kreislauf (z.B. Nitrat-Immobilisierung, Re-Mineralisierung mikrobieller Biomasse, Nitrifikation; siehe *Abbildung 1*) kann es zu einer schnellen Rückführung von ^{15}N gelabelten Nitrat in den Nitrat-Pool des Bodens kommen. Dieser Prozess kann so schnell ablaufen, dass es zu einer Unterschätzung der über die ^{15}N pool dilution Technik abgeschätzten Nitrifikationsraten kommt.

Bestimmung der Netto-Nitrifikationsraten

Aufgrund des hohen Aufwandes wird in vielen Untersuchungen, die sich mit dem N-Kreislauf in Böden beschäftigen nicht die eigentlich relevante Brutto-Nitrifikationsrate, sondern die einfacher zu bestimmende Netto-Nitrifikationsrate gemessen (z.B. ZÖTTL 1960, RUNGE 1970, ROWELL 1997). Die Netto-Nitrifikation beschreibt die Dynamik der Änderung des Nitrat-Pools im Boden. Hierfür wird im zeitlichen Abstand von 4-6 Wochen die Größe des Nitrat-Pools im Boden bestimmt. Die Netto-Nitrifikati-

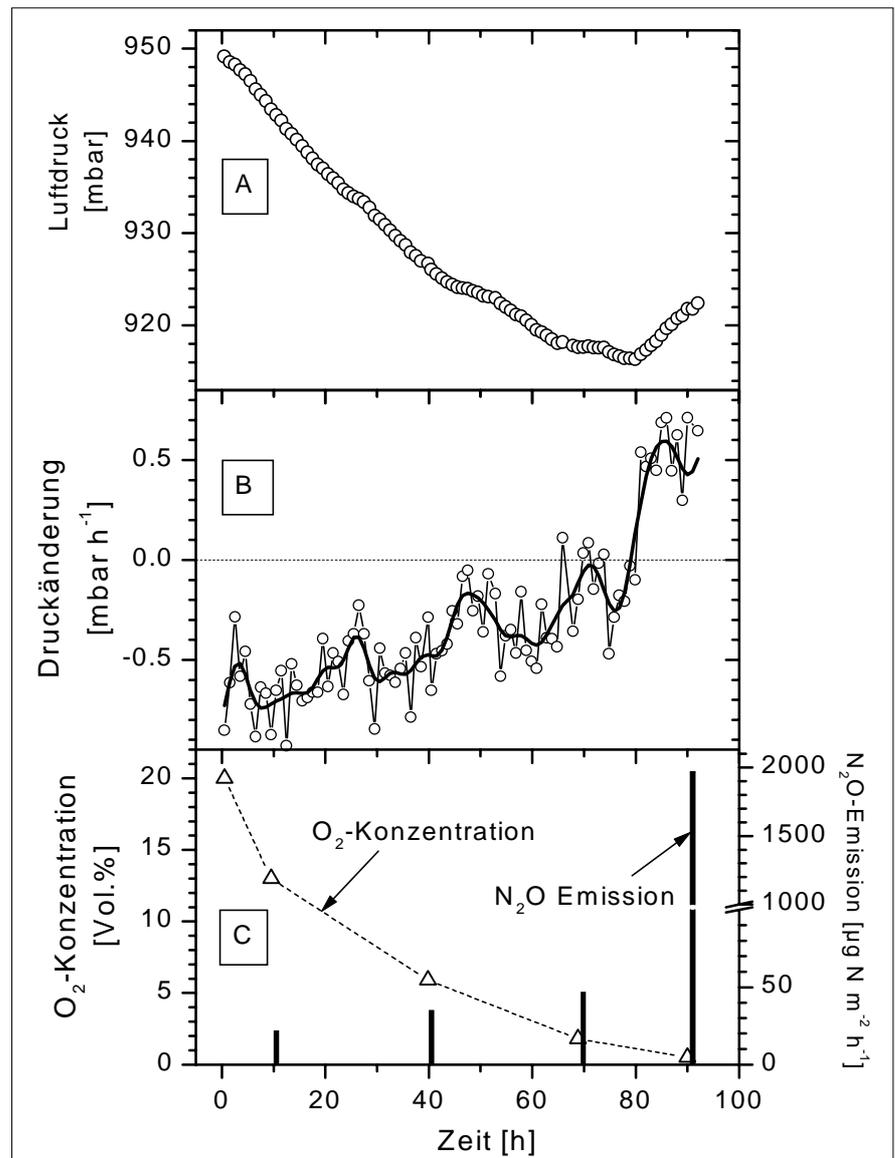


Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf des Luftdruckes (A), der Rate der Druckänderungen (B) sowie der O_2 -Konzentrationen und N_2O -Emissionen in einem isothermen, druckdichten intakten Bodensäule enthaltenden System. Die Druckabnahme in den ersten 70 Stunden des Versuches ist auf die Nitrifikation zurückzuführen, während die Druckzunahme nach 70 Stunden auf die unter O_2 -Mangelbedingungen einsetzende Denitrifikation zurückzuführen ist.

on lässt keinen Rückschluss auf die Höhe und die Dynamik der Nitrifikation (d.h. quantitative Umsetzung von NH_4^+ über Nitrifikation zu NO_3^-) im Boden zu und kann zur Interpretation mikrobieller N-Umsetzungen nur eingeschränkt herangezogen werden.

Barometrische Prozessseparation (BaPS)

Bei dem am IFU entwickelten Verfahren der barometrischen Prozessseparation wird ein völlig anderer Lösungsweg zur Bestimmung der Brutto-Nitrifikation im Boden beschrieben, das den enormen Vorteil bietet, dass weder ^{15}N -Verbindungen appliziert noch gasförmige Inhibitoren eingesetzt werden müssen.

Die BaPS-Methode baut darauf auf, dass in einem gas- und druckdichten System, in dem sich eine Bodenprobe befindet, die folgenden mikrobiologischen Prozesse für eine Veränderung des Systemdruckes verantwortlich sind: Bodenatmung, Nitrifikation und Denitrifikation und das dynamische Gleichgewicht ($\Delta\text{CO}_2/\Delta t$) zwischen der CO_2 -Konzentration im Gasraum $\text{CO}_2(\text{g})$ und der CO_2 -Konzentration in der wässrigen Phase $\text{CO}_2(\text{aq})$.

Die Bodenatmung ist annähernd druckneutral, d. h. die Netto-Gasproduktion $\Delta n/\Delta t = 0$, da sich Sauerstoffverbrauch und CO_2 -Produktion bei einem für oxische Böden charakteristischen respiratorischen Quotienten von 1,0 die Waage halten. Die Nitrifikation hingegen führt zu einer Druckabnahme im System, da 0,5 Mol molekularer Sauerstoff pro Mol Ammonium verbraucht werden, aber kein Gas produziert wird. Mit der Denitrifikation kommt es zu einer Druckzunahme im System, da kein Gas verbraucht, wohl aber bei vollständiger Reduktion von 4 Mol Nitrat zu 2 Mol molekularem Distickstoff neben dem N_2 zusätzlich 2,5 Mol CO_2 freigesetzt werden.

Dies bedeutet, dass bei einer Netto-Druckabnahme im System, die Nitrifikation überwiegen haben muss, während hingegen bei einer Netto-Druckzunahme, die Denitrifikation im System der dominierende Prozess gewesen war (siehe *Abbildung 2*). Die drei mikrobiologischen Prozesse lassen sich durch folgende Reaktionsgleichungen beschreiben:

$$\left(\frac{\Delta n}{\Delta t}\right) = \frac{\Delta p V_{\text{BS}}}{R T \Delta t} = \left(\frac{\Delta\text{CO}_2}{\Delta t}\right)_{\text{Den}} + \left(\frac{\Delta\text{N}_x\text{O}_y}{\Delta t}\right)_{\text{Den}} + \left(\frac{\text{O}_2}{\Delta t}\right)_{\text{Nit}} - \left(\frac{\Delta\text{CO}_2}{\Delta t}\right)_{\text{aq}}$$

$$\left(\frac{\Delta\text{CO}_2}{\Delta t}\right) = \frac{V_{\text{BS}}}{R T \Delta t} [p(x)[\text{CO}_2]_{t=x} - p(0)[\text{CO}_2]_{t=0}] = \left(\frac{\Delta\text{CO}_2}{\Delta t}\right)_{\text{Den}} + \left(\frac{\Delta\text{CO}_2}{\Delta t}\right)_{\text{Res}} - \left(\frac{\Delta\text{CO}_2}{\Delta t}\right)_{\text{aq}}$$

$$\left(\frac{\Delta\text{O}_2}{\Delta t}\right) = \frac{V_{\text{BS}}}{R T \Delta t} [p(x)[\text{O}_2]_{t=x} - p(0)[\text{O}_2]_{t=0}] = \left(\frac{\Delta\text{O}_2}{\Delta t}\right)_{\text{Res}} + \left(\frac{\Delta\text{O}_2}{\Delta t}\right)_{\text{Nit}}$$

wobei:

V_{BS} = Gasvolumen der Bodensäule [cm^3]

R = universelle Gaskonstante [$\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$] ($R=8.314 \text{ J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$)

T = Temperatur [K]

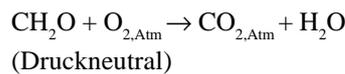
$p(x)$ = Luftdruck zum Zeitpunkt $t=x$ [Pa]

Indices: Den: Denitrifikation, Nit: Nitrifikation, Res: Respiration, aq: wässrige Phase

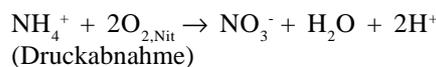
Daraus erhält man die zentrale Gleichung:

$$\left(\frac{\Delta\text{N}_x\text{O}_y}{\Delta t}\right) = \left(\frac{\Delta n}{\Delta t}\right) - \left(\frac{\Delta\text{CO}_2}{\Delta t}\right) - \left(\frac{\Delta\text{O}_2}{\Delta t}\right)$$

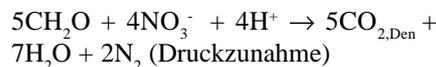
a) Bodenatmung:



b) Nitrifikation:



c) Denitrifikation:



Parallel zur Messung des Druckes im System werden die CO_2 - und O_2 -Konzentrationen im Headspace über der Bodensäule erfasst.

Durch die Messung der Druckänderung im System lässt sich barometrisch für die 4 Prozesse (Bodenatmung, Nitrifikation, Denitrifikation und CO_2 -Gleichgewichtskonzentration zwischen Gasphase und wässriger Phase) eine resultierende Gasbilanz $\Delta n/\Delta t$ berechnen. Durch eine Kombination dieser Gasbilanz mit der O_2 -Bilanz $\Delta\text{O}_2/\Delta t$ und der CO_2 -Bilanz $\Delta\text{CO}_2/\Delta t$ des Systems lässt sich auf die Rate der bei der Denitrifikation gebildeten gasförmigen Stickstoffverbindungen N_xO_y ($\text{N}_x\text{O}_y = \text{N}_2, \text{N}_2\text{O}, \text{NO}$) zurückschließen.

Wenn die Gesamtgasbilanz des Systems, die sich aus der Druckmessung ergibt, nicht aus der Sauerstoffbilanz und der CO_2 -Bilanz erklärbar ist (Gesamtgasbilanz \rightarrow Sauerstoffbilanz plus CO_2 -Bi-

lanz), so kann diese Bilanzlücke nach den oben aufgeführten Überlegungen nur auf die bei der Denitrifikation gebildeten gasförmigen Stickstoffverbindungen (N_xO_y) zurückgeführt werden.

Diese Zusammenhänge können über das folgende Differenzgleichungssystem abgeleitet werden (siehe oben).

N_xO_y ist demnach die Differenz aus Gasbilanz, CO_2 -Bilanz und O_2 -Bilanz. Über eine inverse Bilanz können schrittweise die Bodenatmung und die Nitrifikation quantifiziert werden.

Einschränkend muss jedoch erwähnt werden, dass die barometrische Prozessseparation nicht auf staunasse Böden anwendbar ist, da in diesen Böden andere Prozesse wie z.B. Methanogenese oder Gärungsprozesse von quantitativer Bedeutung sein können.

Messgeräteentwicklung

Aufbauend auf der Theorie der barometrischen Prozessseparation zur Bestimmung mikrobieller N- und C-Umsetzungsraten in Böden wurde von der Fa. UMS ein BaPS-Messsystem entwickelt, das aus einem gasdichten Probenraum, einem Sensorkopf, einem elektronischen Interface und einer Windows-Software zur Steuerung und Auswertung besteht. Als Verbindung zwischen Interface und Computer wird die serielle PC-Schnittstelle benutzt.



Abbildung 3: Inkubationskammer des BaPS-Messsystems

Die Inkubationskammer (Abbildung 3) besteht aus eloxiertem Aluminium. Dadurch wird eine gute thermische Leitfähigkeit und eine hohe mechanische Stabilität, bei geringem Gewicht, erreicht. Die Bodenproben werden mit den mitgelieferten 7 Stechzylindern (Höhe 40,5 mm, \varnothing 60/56 mm) dem Untersuchungsstandort entnommen und in der Inkubationskammer in die dafür vorgesehenen Aussparungen gestellt. Zum Transport der Inkubationskammer wird als Verschluss der Transportdeckel verwendet. Zur Messung wird dieser im Labor gegen den Messkopf ausgetauscht. Im Boden der Kammer ist eine Kühlschlange integriert. Über diese kann die Kammer temperiert werden.

Im Messkopf (Abbildung 4) sind die Sensoren, das Septum und der Ventilator integriert. Die Sensoren werden durch das Lochblech vor mechanischer Beschädigung geschützt. Der Sauerstoff im Headspace wird mit einem Zirkonoxid-

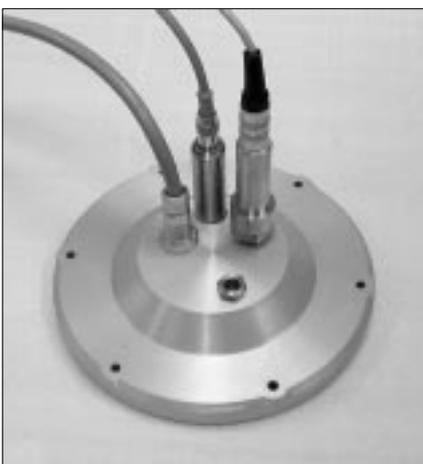


Abbildung 4: Sensorkopf des BaPS-Messsystems mit Sensoren für O_2 -, CO_2 - und Druck-Messung.

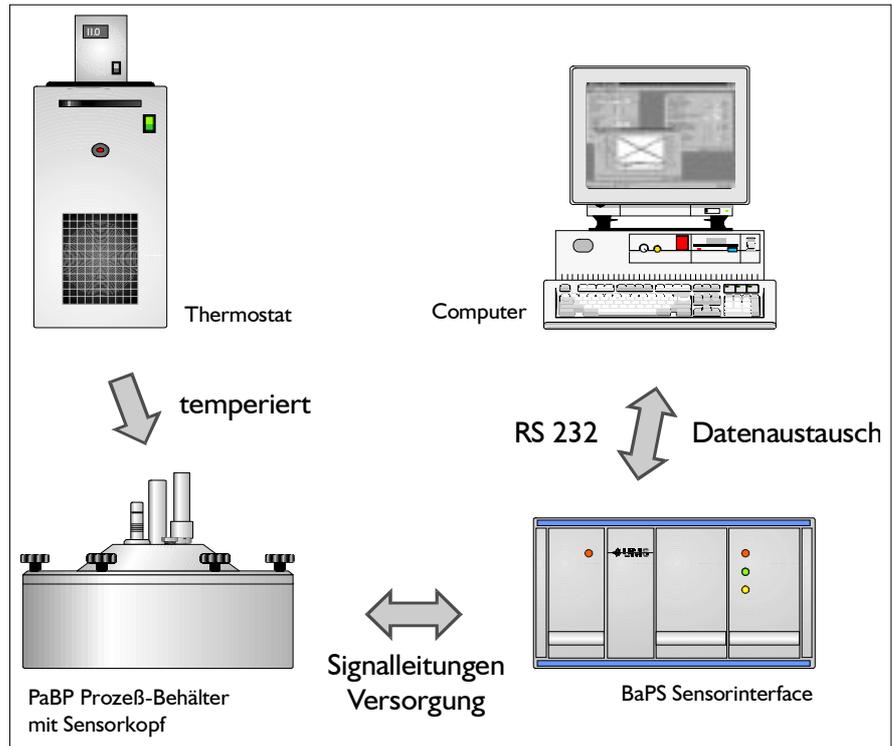


Abbildung 5: Schematischer Aufbau des UMS-Messsystems zur Bestimmung mikrobieller N- und C-Umsatzraten in Böden über das Verfahren der barometrischen Prozessseparation.

sensor gemessen, das CO_2 mit einem Infrarot-Sensor. Als Drucksensor wird eine piezoresistive Druckmesszelle eingesetzt. Zusätzlich werden die Temperatur im Headspace und im Boden gemessen. Der Ventilator sorgt für eine ausreichende Umwälzung der Headspace-luft, wodurch eine Anreicherung von Gasen oder ein zu großes Temperaturgefälle ausgeschlossen ist.

Das Septum wird benötigt, um über definierte Volumenvergrößerung den

Headspace zu bestimmen. Zusätzlich ist über das Septum eine Gasprobennahme zu Kalibrationszwecken oder zur Untersuchung auf zusätzliche Gasanteile wie z.B. N_2O möglich.

Das Sensorinterface ist für die Wandlung und Weiterleitung der Signale an den Computer zuständig. Der A/D-Wandler hat eine Auflösung von 24 Bit. Die Weitergabe der Daten erfolgt über die RS232 Schnittstelle - damit ist ein einfacher Anschluss an alle Computer mit Windows-Oberfläche möglich.

Der gesamte Systemaufbau ist in *Abbildung 5* zu sehen. Zur Temperierung wird idealerweise ein Thermostat mit externem Kreislauf angeschlossen. Im Boden des BaPS-Behälters befindet sich eine Bohrung, durch die das thermostatisierte Wasser durchgeleitet werden kann.

Ergebnisse

Die neue Methode zur Bestimmung von Brutto-Nitrifikationsraten in Böden wurde erfolgreich über die ^{15}N -pool dilution Technik validiert (INGWERSEN et al. 1999). So waren z.B. die für den Auflagehorizont am Fichtenwaldstandort Höglwald, Bayern, mit der BaPS-Methode bzw. mit der ^{15}N -pool dilution Technik bestimmten Brutto-Nitrifikations-

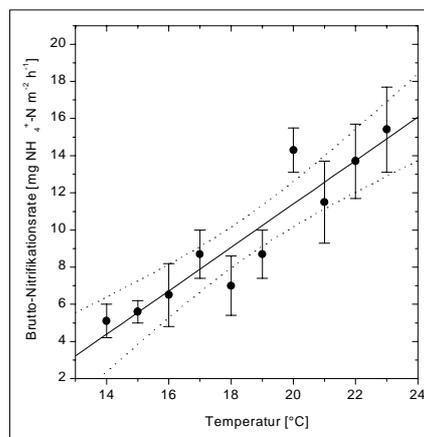


Abbildung 6: Abhängigkeit der Brutto-Nitrifikation in einem tropischen Waldboden von Änderungen der Temperatur.

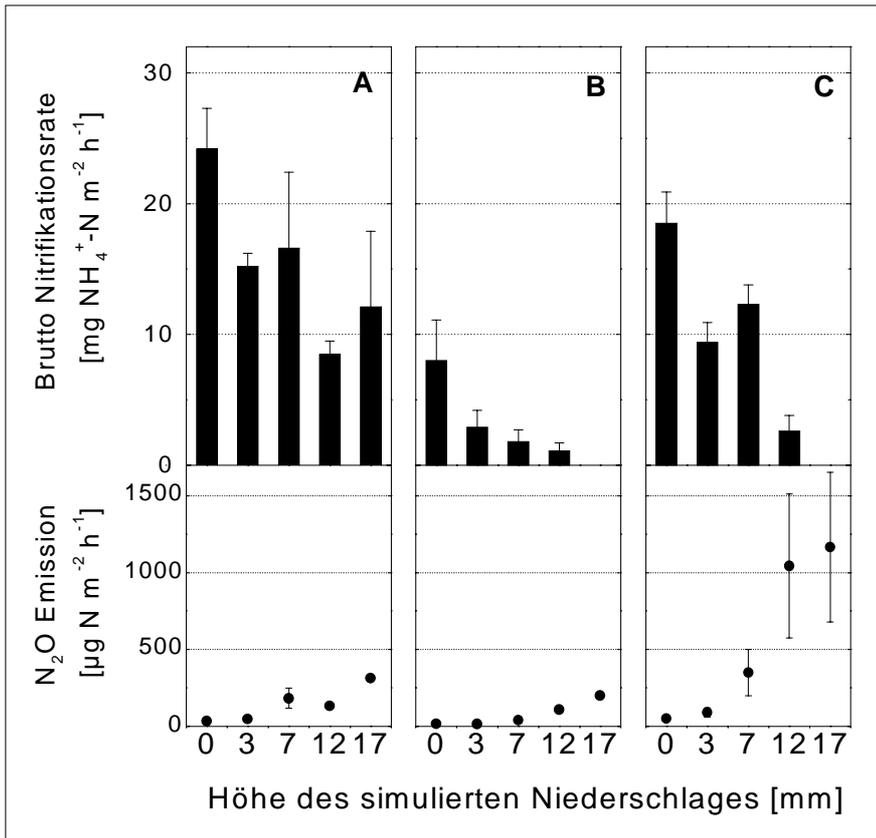


Abbildung 7: Abhängigkeit der Brutto-Nitrifikation und der N₂O-Emission von der Höhe des simulierten Niederschlages an den drei Regenwaldstandorten Kauri Creek (A), Lake Eacham (B) und Massey Creek (C), Atherton Tablelands, Australien.

raten mit $13.3 \pm 3.6 \mu\text{g N g}^{-1}$ Bodentrockengewicht bzw. $9.4 \pm 3.6 \mu\text{g N g}^{-1}$ Bodentrockengewicht statistisch nicht unterscheidbar. Auch weitere Validierungsversuche an anderen Standorten bestätigten die gute Vergleichbarkeit von Nitrifikationsraten, die über ¹⁵N-Technik bzw. über barometrische Prozessseparation bestimmt wurden.

Die BaPS-Methode wurde inzwischen erfolgreich in verschiedensten Ökosystemen eingesetzt, so z.B. zur Bestimmung von Nitrifikationsraten in temperaten und in tropischen Waldböden. Erstmals konnte mit dieser Technik die Abhängigkeit der Nitrifikation im Boden von Änderungen der Temperatur und der Bo-

denfeuchte aufgezeigt werden (Abbildung 6 und 7), was bis dahin aufgrund des mit der ¹⁵N-Technik verbundenen hohen Material- und Arbeitsaufwandes noch nicht gelungen war. Die über solche Versuche gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass die nitrifikatorischen Umsetzungen im Boden bisher dramatisch unterschätzt worden sind und auf Ökosystemebene in der Größenordnung von 30–600 mg NH₄⁺-N m⁻² d⁻¹ bzw. 109 - 2190 kg N ha⁻¹ Jahr⁻¹ liegen. Solche Größenordnungen der Nitrifikation können nur über einen umfangreichen internen N-Kreislauf erklärt werden (Abbildung 1), bei dem nitrifikatorisch aus Ammonium gebildeten Nitrat durch den Ein-

bau in mikrobieller Biomasse (Immobilisation) und anschließendem Absterben und Re-Mineralisation erneut dem System als Ammonium zur Verfügung steht.

Wie bereits gezeigt, erlaubt die neue Methode eine Parametrisierung der Abhängigkeit der nitrifikatorischen Umsetzungen in Böden und der damit verbundenen Nitrat-Freisetzung von Änderungen der Umweltrahmenbedingungen und trägt so zu einem besseren Verständnis der Bedeutung mikrobieller N-Umsetzungen für den N-Haushalt in terrestrischen Ökosystemen bei. Diese Erkenntnisse werden es erlauben neue Strategien zu entwickeln, mit denen z.B. die Nitrat-Bildung in agrarisch genutzten Ökosystemen und damit auch der Nitrat-Austrag in das Grundwasser zurückgeführt werden kann.

Literaturverzeichnis

- DAVIDSON, E.A., C.H. STEPHEN and M.K. FIRESTONE, 1992: Internal Cycling of Nitrate in Soils of a Mature Coniferous Forest. *Ecology* 73, 1148-1155.
- INGWERSEN, J., K. BUTTERBACH-BAHL, R. GASCHKE, O. RICHTER and H. PAPEN, 1999: Barometric Prozess Separation (BaPS): New Method for Quantifying Nitrification, Denitrification and N₂O Sources in Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 117-128.
- MOSIER, A.R. und D.S. SCHIMEL, 1993: Nitrification and denitrification. In: KNOWLES R., BLACKBURN T.H. (eds.), *Nitrogen isotope techniques*, p. 181-208, Academic Press, San Diego, USA.
- ROWELL, D.L., 1997: *Bodenkunde*. Springer Verlag, Berlin.
- RUNGE, M., 1970: Untersuchungen zur Bestimmung der Mineralstickstoff-Nachlieferung am Standort. *Flora* 155, 353-385.
- SCHLEGEL, H.G., 1992: *Allgemeine Mikrobiologie*. Thieme Verlag.
- ZÖTTL, H., 1960: Methodische Untersuchungen zur Bestimmung der Mineralstickstoffnachlieferung des Waldbodens. *Forstw. Cbl.* 97, 72-90.

