



PROTOKOLL ANALYTIK

Versuch 3.1

Photometrische Ammonium-Bestimmung in Wässern

Gruppe 2.4 (BCUC4)

Teilnehmer:

Willy Messerschmidt
Roman-Luca Zank

Datum der Versuchsdurchführung: 15.06.2020

Abgabedatum: 16.06.2020

Merseburg den 18. Juni 2020

Inhaltsverzeichnis

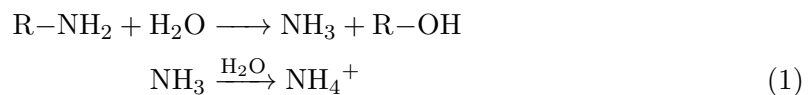
1	Einleitung	2
2	Theorie	2
2.1	Lambert-Beer'sches Gesetz	2
2.2	Entwicklung photometrischer Methoden	3
2.3	Voraussetzungen für die Absorption im UV/-VIS-Bereich	3
2.4	Absorption mit Ammonium-Ionen	3
3	Geräte und Chemikalien	4
4	Durchführung	4
5	Ergebnisse und Berechnungen	5
6	Diskussion	7
7	Fehlerbetrachtung	7
	Anhang	8

1 Einleitung

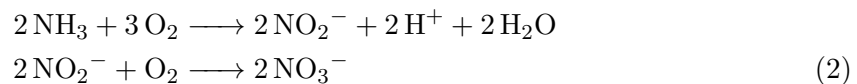
In diesem Versuch soll Ammonium in verschiedenen Wasserproben, mittels Photometrie, quantifiziert werden. Da Ammonium ein wesentlicher Bestandteil des Stickstoffkreislaufes in Ökosystemen dargestellt, ist die Betrachtung des Ammonium-Gehaltes in Gewässern von großer Bedeutung. Abwässer, sowie Düngerausschwemmungen oder der Abbau von Extremanten können als Quelle für Ammonium-Ionen in Böden und Gewässern fungieren. Gerade proteinreiche, organische Substanzen stehen dabei im Fokus (siehe Gl. (1)). Dabei entziehen die Ammonium-Ionen, durch den Prozess der Nitrifikation (siehe Gl. (2)), Sauerstoff. Dieser ist für Wasserorganismen lebenswichtig. Daraus ergibt sich, dass Wasser wie unbelastete Oberflächengewässer, Kläranlagenabläufe oder Trinkwasser gewisse Grenzwerte einzuhalten haben.

Diese Grenzwerte werden für der zur Verfügung gestellten Proben untersucht.

Prozess der Ammonifikation:



Prozess der Nitrifikation:



2 Theorie

2.1 Lambert-Beer'sches Gesetz

Als Messverfahren für die Ammonium-Bestimmung wird in diesem Versuch die Photometrie genutzt. Photometrie beschreibt dabei die Messung der Absorbanz einer bestimmten Wellenlänge.

Grundlage für den Zusammenhang von Absorbanz und Konzentration stellt hierbei das LAMBERT-BEER'sche Gesetz dar (siehe Gl.(3)). Aus diesem ist ersichtlich, dass sich Absorbanz $A [-]$ und Konzentration $c \left[\frac{\text{mol}}{\text{L}} \right]$ bei konstanter Schichtdicke $d [\text{cm}]$ und konstantem Absorptionskoeffizient $\alpha \left[\frac{\text{L}}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \right]$ proportional verhalten.

Die Anwendung des LAMBERT-BEER'sche Gesetzes setzt dabei monochromatisches Lichtstrahlung voraus, sowie die Messung einer idealen Lösung.

$$\begin{aligned} A &= \alpha(\lambda) \cdot c \cdot d \\ A &= pT = -\log(T) \end{aligned} \quad (3)$$

Die Absorbanz selbst beschreibt den negativ dekadischen Logarithmus der Durchlässigkeit T eines Mediums und stellt somit ein Maß für die absorbierte elektromagnetische Strahlung dar. Die Durchlässigkeit T definiert sich als Reststrahlung in Form der Intensität I im Verhältnis zur Ausgangsintensität I_0 (siehe Gl.(4)).

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (4)$$

2.2 Entwicklung photometrischer Methoden

Um bestimmte Atome/Moleküle/Ionen in Lösungen mittels Photometrie quantifizieren zu können, ist die Bestimmung der charakteristischen Wellenlänge nötig. Um diese identifizieren zu können, werden spektroskopische Messungen des gesuchten Atoms/Moleküls/Ions durchgeführt. Das bei einer bestimmten Wellenlänge auftretende Absorptionsmaximum entspricht, dann der sensitiven Wellenlänge für die photometrische Untersuchung. Da die Lichtabsorption, nach dem LAMBERT-BEER'schen Gesetz, von der Konzentration abhängig ist, kann diese Konzentration einer Probe mittels Kalibriergerade bestimmt werden.

2.3 Voraussetzungen für die Absorption im UV/-VIS-Bereich

Um überhaupt eine Absorption durch ein Atom/Molekül/Ion garantieren zu können, ist das Vorhandensein von Valenzelektronen von Bedeutung. Die UV/VIS-Spektroskopie basiert auf Elektronenübergängen nach Zuführung von elektromagnetischer Energie. Diese Energie benötigt einen bestimmten Betrag, um die Valenzelektronen in einen angeregten Zustand zu versetzen. Dieser Betrag, um ein Elektron aus den energieärmeren Zustand HOMO in den energiereicheren Zustand des LUMO zu versetzen, ist für jedes Atom/Molekül/Ion charakteristisch.

Die Strahlung, in Form von elektromagnetischer Energie, liegt bei diesem Verfahren im ultravioletten bis sichtbarem Bereich.

2.4 Absorption mit Ammonium-Ionen

Ammonium-Ionen erscheinen in Lösung selbst nicht farbig. Grund hierfür ist, dass diese Ionen Licht nicht im sichtbaren Spektrum absorbieren, sondern in einem sehr kurzwelligen und energiereichen Bereich. Dieser kurzwellige Bereich wird in diesem Versuch vom Photometer nicht detektiert. Das hat zur Folge, dass die Ammonium-Ionen mittels NEßLER-Reagenz zu einem rot-braunen Komplex in der Lösung koordinieren. Dieser ist mit einer Wellenlänge von 425 nm für das Messgerät erfassbar.

3 Geräte und Chemikalien

Geräte:

- Spektralphotometer NOVASPEC II
- 1 cm Polystyrolküvetten
- Vollpipetten zu 1 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL, 30 mL
- Ependorfpipette mit 200 μ L und 1000 μ L
- Maßkolben zu je 100 mL
- Bechergläser

Proben/Chemikalien:

- Kaliumnatriumtartratlösung
- NEßLER-Reagenz
- Ammonium-Stammlösung ($1 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$)
- Reinstwasser

4 Durchführung

Als erstes muss das Spektralphotometer eingeschaltet werden, da es eine lange Vorwärmzeit besitzt. Die Kalibrierung geschieht mit einer Leerprobe. Diese soll die Matrix der im Anschluss betrachteten Lösungen möglichst genau nachbilden. Daher werden 20 mL Reinstwasser mit jeweils 200 μ L Kaliumnatriumtartratlösung und 200 μ L NEßLER-Reagenz vermischt. Nun kann aus der Ammonium-Stammlösung die Ammonium-Standardlösung durch verdünnen hergestellt werden. Dazu wird ein Milliliter der Stammlösung in einem Maßkolben mit Reinstwasser auf 100 mL aufgefüllt. Aus der Standardlösung werden im Anschluss die Kalibrierlösungen durch nochmaliges Verdünnen hergestellt. Ziel sind dabei jeweils drei Kalibrierlösungen einheitlicher Beschaffenheit. Zur Kalibrierung dienen die Konzentrationen von $0,5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, $1,5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ und $3,0 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ und einem Volumen von 20 mL. Den Kalibrierlösungen werden, wie den Analyseproben auch, jeweils 200 μ L Kaliumnatriumtartratlösung und 200 μ L NEßLER-Reagenz hinzugefügt. Daraufhin sollten sich die Lösungen gleicher Konzentration auch im gleichen gelben Farbton färben. Die Analyseproben werden ganz analog vorbereitet. Vor der Messung sollten die Lösungen mindestens 15 min ruhen, um eine Vollständige Komplexierung der Ammoniumionen zu ermöglichen. Die Analyse der Kalibrierlösungen und Proben erfolgt durch Befüllen und anschließendes Einsetzen der Küvetten in den Probenraum des Spektralphotometers. Die Absorbanzmesswerte werden am Display abgelesen und notiert. Sollte aus Genauigkeitsgründen eine einzige Küvette für alle Messungen genutzt werden, so ist diese nach vor jeder neuen Füllung mit der neuen Lösung zu spülen, um Kontaminationen durch vorhergehende Proben zu vermeiden.

5 Ergebnisse und Berechnungen

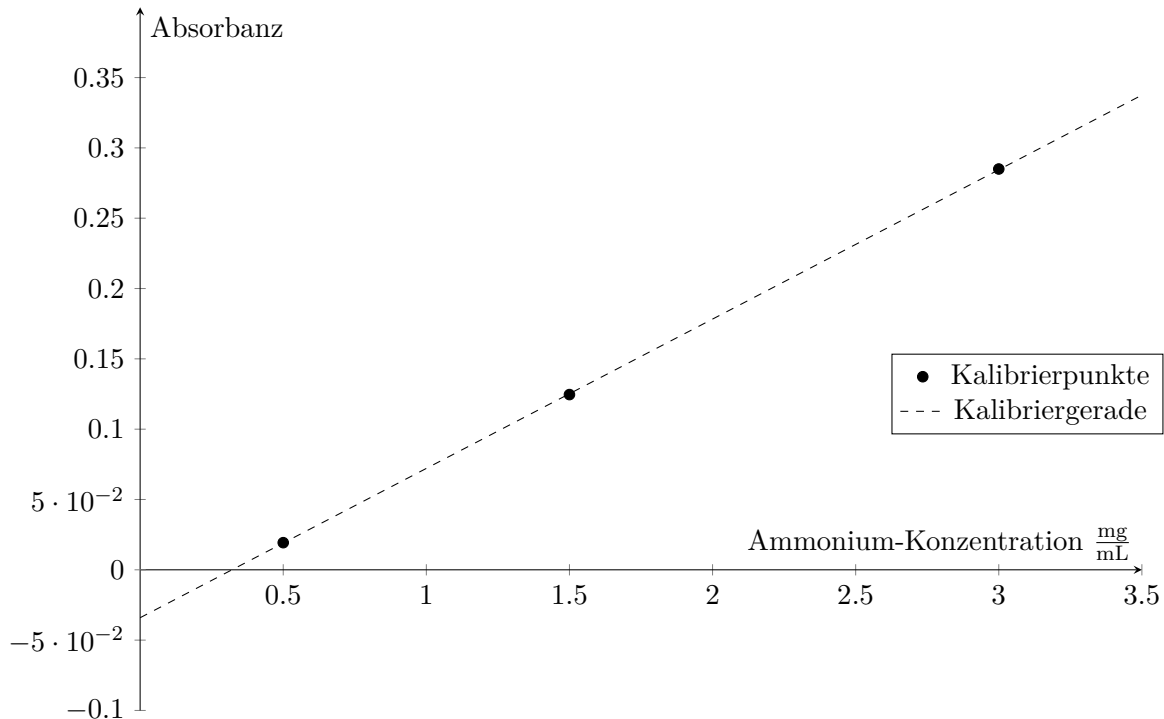


Abb. 1: Absorbanz in Abhängigkeit der Ammonium-Konzentration

Berechnung der Ammonium-Konzentration aus der Kalibriergeraden

$$\begin{aligned}
 A &= f(c_{\text{NH}_4^+}) = 0,106 \cdot c_{\text{NH}_4^+} - 0,034 \\
 c_{\text{NH}_4^+} &= \frac{A + 0,034 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,106} \\
 &= \frac{0,029 + 0,034 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,106} \\
 &= \underline{\underline{0,59 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}} \quad (5)
 \end{aligned}$$

Berechnung der Konzentration von Stickstoff aus der Ammonium-Konzentration

$$\begin{aligned}
 c_{\text{N}} &= n\%_{\text{N}} \cdot c_{\text{NH}_4^+} \\
 &= \frac{M_{\text{N}}}{M_{\text{NH}_4^+}} \cdot c_{\text{NH}_4^+} \\
 &= \frac{14,00067 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{18,03846 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \cdot 0,69 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \\
 &= 0,78 \cdot 0,69 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \\
 &= \underline{\underline{0,54 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}} \quad (6)
 \end{aligned}$$

Berechnung des Mittelwertes:

$$\begin{aligned}\bar{x} &= \frac{\sum_{n=1}^N x_n}{N} \\ \bar{x} &= \frac{0,02 + 0,017 + 0,021}{3} \\ &= \underline{0,019}\end{aligned}\quad (7)$$

Berechnung der Standardabweichung:

$$\begin{aligned}s &= \sqrt{\frac{\sum_{n=1}^N (x_n - \bar{x})^2}{N - 1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,59 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 0,69 \frac{\text{mg}}{\text{L}})^2 + (0,91 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 0,69 \frac{\text{mg}}{\text{L}})^2 + (0,58 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 0,69 \frac{\text{mg}}{\text{L}})^2}{2}} \\ &= \underline{0,19 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}\end{aligned}\quad (8)$$

Berechnung der relativen Standardabweichung:

$$\begin{aligned}s_{rel} &= \frac{s}{\bar{x}} \\ &= \frac{0,19 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,69 \frac{\text{mg}}{\text{L}}} \\ &= \underline{28\%}\end{aligned}\quad (9)$$

Berechnung des Vertrauensintervalls:

$$\begin{aligned}\text{conf}(\bar{x}) &= \bar{x} \pm \frac{t}{\sqrt{N}} \cdot s \\ \text{conf}(\bar{x}) &= 0,69 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \pm \frac{4,303}{\sqrt{3}} \cdot 0,19 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \\ &= \underline{0,69 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \pm 0,47 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}\end{aligned}\quad (10)$$

Grenzwerttest für Trinkwasser ($0,5 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ NH}_4^+$):

$$\begin{aligned}t_{\text{EMP},95} &= \frac{\bar{x} - x_{\text{Grenz}}}{s} \cdot \sqrt{N} \\ &= \frac{0,69 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 0,50 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,47 \frac{\text{mg}}{\text{L}}} \cdot \sqrt{3} \\ &= \underline{1,73}\end{aligned}\quad (11)$$

Der tabellierte Wert für t_{CRIT} für einen einseitigen Test mit einer Sicherheit von 95% bei einem Freiheitsgrad von 2 lautet 2,920.

Um mit 95% Sicherheit sagen zu können, dass der Messwert unterhalb des Grenzwertes liegt gilt folgendes Kriterium:

$$\begin{aligned}t_{\text{EMP}} &< -t_{\text{CRIT}} \\ 1,73 &< -2,92\end{aligned}\quad (\text{falsche Aussage})$$

Somit liegt der Messwert laut statistischer Auswertung nicht unterhalb der einzuhaltenden Höchstkonzentration von Trinkwasser.

6 Diskussion

Im folgenden wird Bezug auf gemessene und berechnete Werte des Anhangs genommen. Die Kalibrierung mit den Kalibrierlösungen K1 und K2 ist unauffällig. Im Vergleich dazu liegen für Kalibrierlösung K3 große Abweichungen zwischen den Messergebnissen vor (siehe Anhang). Auch ein nochmaliges Vermessen der dritten Analysenlösung konnte den Unterschied nicht beheben. Es handelt sich dabei also nicht um einen Messfehler. Die Fehlerquelle lässt sich in der Probenvorbereitung vermuten.

Die mittlere Konzentration von Ammoniumionen der Probe A1 beträgt $0,96 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$. Der Grenzwert für Trinkwasser innerhalb der Europäischen Gemeinschaft, von $0,5 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$, wird damit überschritten. (vgl. Abschnitt 5) Auch die Proben A2 und A3 überschreiten diesen Grenzwert. Bei den Proben A1 und A2 ist dies nicht weiter von Belang, da sie nur als „Laborproben“ bekannt sind. Besorgniserregend ist die Überschreitung des Grenzwertes durch die Probe A3. Selbige ist als „Leitungswasser“ beschriftet, welches für allgemein Trinkwasserqualität besitzt. Besonders im Zusammenhang mit der, durch die WHO empfohlene, Richtkonzentration für Ammonium von $0,05 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$ erscheint das, in diesem Versuch ermittelte, Ergebnis als überhöht. Wenngleich vom Genuss der Wässer dringend abzuraten ist, können sie, mit einer Ammoniumkonzentration kleiner als $10 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$, direkt in den Vorfluter kommunaler Kläranlagen eingeleitet werden.

7 Fehlerbetrachtung

Die Fehler in diesem Versuch werden hauptsächlich in Verunreinigungen vermutet. So wurden die Bechergläser vor dem Befüllen nicht noch einmal gespült und die Vollpipetten nur mit deionisiertem Wasser und nicht mit der Probe gespült. Die Messung könnte durch Staubpartikel aus der Luft in und an den Küvetten sowie im Photometer verfälscht worden sein. Es wurde für alle Messungen die gleiche Küvette genutzt. Das schließt den individuellen Einfluss der Wandungsbeschaffenheit als mögliche Fehlerquelle aus.

Neben Verunreinigungen kann sich auch der unterschiedliche Verlauf der Komplexierungsreaktion der Ammoniumionen und störender Metallionen in den Ergebnissen niederschlagen. Bei der Probenvorbereitung wurden nicht alle Proben gleich behandelt. Manche Bechergläser wurden öfter als andere Vershoben. Diese unabsichtlich herbeigeführte Agitation der Lösungen könnte sich auf die darin ablaufenden Reaktionen ausgewirkt haben.

Bei der Probenvorbereitung gehen außerdem die Toleranzen der Pipetten und Maßkolben als Fehler in das Experiment ein.

Es konnte eine Erklärung für die auffällige Abweichung der Konzentration bei der zweiten Wiederholung der Messung der Analysenprobe A1 ausgemacht werden. Die Pipettierung der Analysenprobe A1 erfolgte nach der Pipettierung der Probe A2. Aus der Versuchsauswertung geht hervor, dass die Probe A2 die höchst-konzentrierte ist. Es wird vermutet dass Rückstände an der Vollpipette zu einer Erhöhung des besagten Wertes beitrugen.

Praktikum:

- ☐ BAC/2.Sem.: "Analytik"
☒ BCUC/4.Sem.: "Analytik"
☐ BCUU/4.Sem.: "Analytik"
☐ BWIWU/4.Sem.: "Analytik"

- ☐ Protokoll genehmigt
☐ Protokoll korrigieren
☐ Rücksprache erbeten
☐ Protokoll registriert

PROTOKOLL

Versuch: Molekülspektroskopie / UV-VIS-Bereich / Photometrie
3.1 NH_4^+ -Bestimmung im Trinkwasser

Analysenproben: A1: Laborprobe
 A2: Laborprobe
 A3: Leitungswasser

Probenahme:

Probenvorbereitung:

Kalibrierung:

- für jede Wiederholung (Wh.) einer Kalibrierprobe bereiten Sie nach Versuchsanleitung eine neue Messprobe vor
- Einheit der NH_4^+ -Konzentration: $[\text{X}] = \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$

Kalibrierlösungen	NH_4^+ -Konzentration $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}\right]$	Absorbanz 1. Wh.	Absorbanz 2. Wh.	Absorbanz 3. Wh.	Absorbanz Mittelwert
K1	0,5	0,020	0,017	0,021	0,0193
K2	1,5	0,124	0,124	0,126	0,1246
K3	3,0	0,283	0,267	0,304	0,285

Messergebnisse:

- Für jede wiederholte Messung bereiten Sie nach Versuchsanleitung eine neue Messprobe

Probe	Wiederholung	Absorbanz	NH ₄ ⁺ -Konz. in ...[L].....	NH ₄ ⁺ $\bar{x}(\text{NH}_4^+)$	N $\bar{x}(\text{N})$
A1	1	0,029	0,59		
	2	0,063	0,91	0,69	0,54
	3	0,027	0,58		
A2	1	0,153	1,8		
	2	0,148	1,7	1,8	1,4
	3	0,154	1,8		
A3	1	0,029	0,59		
	2	0,028	0,59	0,59	0,46
	3	0,028	0,59		

Analysenergebnisse und statistische Bewertung

- Alle Angaben in dieser Tabelle in mg l⁻¹
- Wenn ein Analysenwert kleiner als die kleinste Kalibrierkonzentration ist, dann entfällt der statistische Test (Angabe „statistischer Test entfällt“)
- Wenn ein Analysenwert größer als die größte Kalibrierkonzentration ist, dann müssen Sie verdünnen

Analysenergebnisse					Statistische Bewertung			
Probe	N	\bar{x}	s	cnf(\bar{x})	xGRENZ	t _{EMP}	t _{CRIT}	Entscheidung
A1	3	0,69	0,19	0,69 ± 0,47	0,5	1,73	2,92	GW überschritten
A2	3	1,8	0,1	1,8 ± 0,25	0,5	22,52	2,92	GW überschritten
A3	3	0,59	0,00	0,59 ± 0	0,5	t _{emp} → ∞ da s=0	2,92	GW überschritten