



## 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: XXX

Merseburg den 16. Juni 2020

# Inhaltsverzeichnis

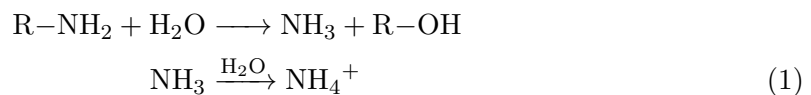
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>Theorie</b>	<b>2</b>
2.1	Lambert-Beer'sches Gesetz . . . . .	2
2.2	Entwicklung photometrischer Methoden . . . . .	3
2.3	Voraussetzungen für die Absorption im UV/-VIS-Bereich . . . . .	3
2.4	Absorption mit Ammonium-Ionen . . . . .	3
<b>3</b>	<b>Geräte und Chemikalien</b>	<b>4</b>
<b>4</b>	<b>Durchführung</b>	<b>4</b>
<b>5</b>	<b>Ergebnisse und Berechnungen</b>	<b>5</b>
<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>8</b>
<b>7</b>	<b>Fehlerbetrachtung</b>	<b>8</b>
	<b>Anhang</b>	<b>9</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>11</b>

# 1 Einleitung

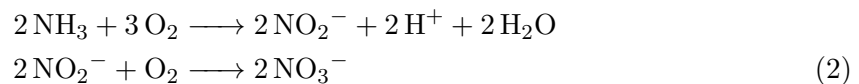
In diesem Versuch soll Ammonium in verschiedenen Wasserproben, mittels Photometrie, quantifiziert werden. Da Ammonium ein wesentlicher Bestandteil des Stickstoffkreislaufes in Ökosystemen dargestellt, ist die Betrachtung des Ammonium-Gehaltes in Gewässern von großer Bedeutung. Abwässer, sowie Düngerausschwemmungen 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 ein 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  $\alpha \left[ \frac{\text{L}}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \right]$  sich 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, sind spektroskopische Messungen des gesuchten Atoms/Moleküls/Ions nötig. 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  $\mu$ L und 1000  $\mu$ 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  $\mu$ L Kaliumnatriumtartratlösung und 200  $\mu$ 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  $\mu$ L Kaliumnatriumtartratlösung und 200  $\mu$ 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

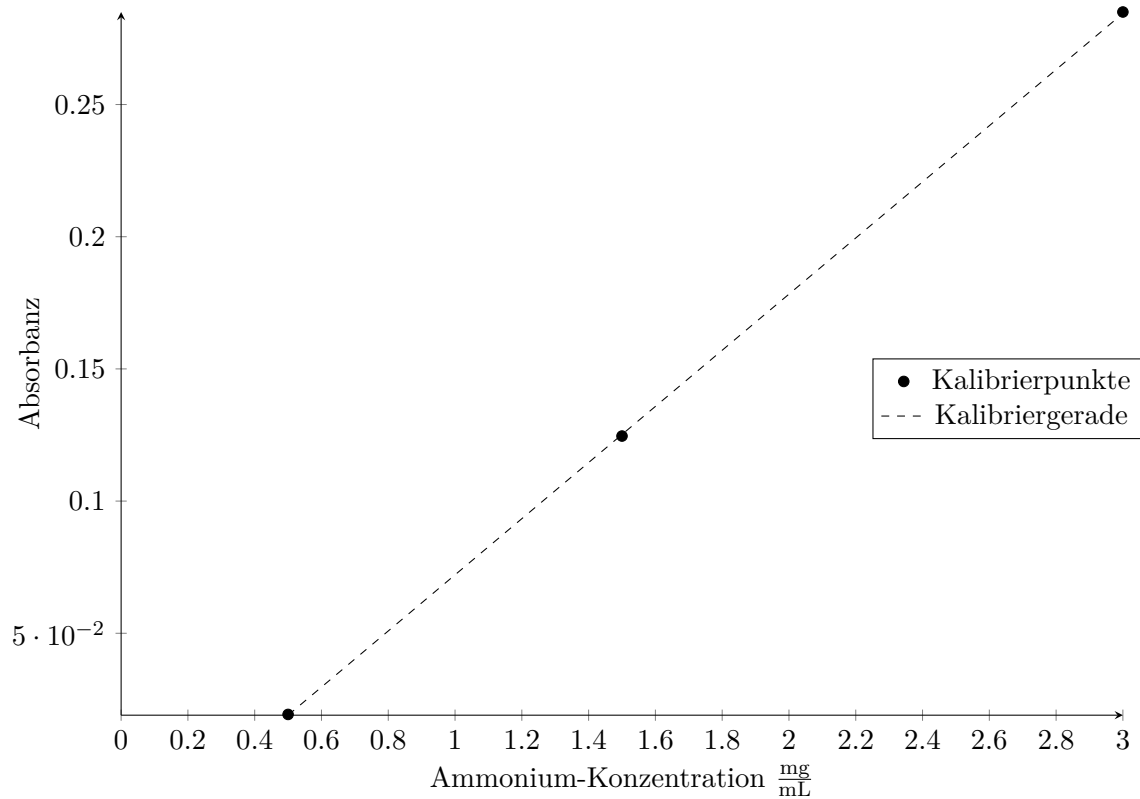


Abb. 1: Absorbanz in Abhängigkeit der Ammonium-Konzentration

### Berechnung der Ammonium-Konzentration aus der Kalibriergeraden

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

### 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:**

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

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

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

Der tabellierte Wert für  $t_{\text{CRIT}}$  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:

$$t_{\text{EMP}} < -t_{\text{CRIT}}$$

$$1,73 < -2,92$$

(falsche Aussage)

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



## **6 Diskussion**

## **7 Fehlerbetrachtung**

**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**  $\text{NH}_4^+$ -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  $\text{NH}_4^+$ -Konzentration:  $[\text{X}] = \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$

Kalibrierlösungen	$\text{NH}_4^+$ -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 <sub>4</sub> <sup>+</sup> -Konz. in ...[L].....	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> $\bar{x}(\text{NH}_4^+)$	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<sup>-1</sup>
- 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 <sub>EMP</sub>	t <sub>CRIT</sub>	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 <sub>emp</sub> → ∞ da s=0	2,92	GW überschritten

# Literatur