

Photometermessung Ammonium (NH₄-N)

1. Methodenbeschreibung:

Ammonium reagiert mit den zugegebenen Reagenzien unter Bildung einer blauen Färbung (Indophenolblau). Je mehr Ammonium in der Probe ist, desto dunkler ist diese Färbung.

In einem Photometer wird ein Lichtstrahl durch die Probe geschickt. Je dunkler die Färbung ist, desto stärker wird der Lichtstrahl abgeschwächt. Das Photometer misst diese Extinktion. Um nun die Konzentration des Ammoniums zu berechnen, brauchst du eine Standardreihe. Das ist eine Reihe von Lösungen mit ansteigenden Ammoniumkonzentrationen. Diese Standardreihe wird wie die Proben mit Reagenzien versetzt und im Photometer vermessen. Da du bei der Standardreihe die Konzentrationen kennst, kannst du aus der Beziehung zwischen Konzentration und Extinktion deiner Standardreihe auch die Konzentration deiner Proben berechnen.

2. Probennahme:

- Spüle dein Probengefäß 3mal mit dem Bachwasser.
- Fülle es dann an und schließe es sorgfältig. Du musst dabei immer bachabwärts vom Entnahmeort stehen.
- Bewahre die Probe stets gekühlt und im Dunkeln auf (am besten im Kühlschrank)
- Filtriere die Probe so bald wie möglich mit einem 0.45 µm Glasfaserfilter.

3. Materialien für Analysen (pro Gruppe):

- 1 Spritze plus Filteraufsatz, Filter, Spritzflasche und Pinzette zum Filtrieren
- 1 Rack sowie je 1 Tube pro Probe und 5 Tubes für die Standardreihe
- 1-5 mL Kolbenhubpipette plus Spitzen zum Pipettieren der Proben
- 0,1-1 mL Kolbenhubpipette plus Spitzen
- 5 Messkolben für die Standardreihe
- 40 oder 50 ml Vollpipette plus Pelusball für Mischreagenz, Bechergläser

4. Chemikalien:

- a) 0,3 m/L Natronlauge (NaOH-Lösung; hält sich lange): Fülle 1,2 g NaOH-Plätzchen in einen 100 mL Messkolben und fülle diesen mit Milli-Q auf 100 mL auf
- b) Natriumsalicylatlösung: Löse 17g Natriumsalicylat in einem kleinen Becherglas mit wenig Milli-Q Wasser

- c) Natriumnitroprussid (giftig): Löse 0,12g Natriumnitroprussid mit wenig Milli-Q Wasser in einem 100ml Messkolben
- d) Nasa-Nipru-Lösung: Füge die Natriumsalicylatlösung (Lösung b) zum Natriumnitroprussid (Lösung c) und fülle den Kolben auf 100 mL auf
- e) **Dichlorisocyanursäure**: Fülle 0,1g Dichlorisocyanursäure in einen 100 mL Messkolben und fülle mit Milli-Q Wasser auf 100mL auf (frisch herstellen)
- f) **Mischlösung** (hält sich nicht!): 40 mL NaOH + 40 mL Nasa-Nipru + 40 mL Milli-Q Wasser (Menge reicht für ca. 35-40 Proben plus Standardreihe)
- g) Ammoniumchlorid-Stammlösung 1 (100 mg/L NH₄-N): Fülle 0,382g NH₄Cl in einen 1L Messkolben und fülle auf 1000ml mit Milli-Q Wasser auf
- h) Ammoniumchlorid-Stammlösung 2 (10mg/L NH₄-N): Pipettiere 10ml der Stammlösung 1 in einen 100mL Messkolben und fülle auf 100ml mit Milli-Q Wasser auf
- i) **Standardreihe** aus Stammlösung 2:

Konzentration	Stammlösung	
400µg NH ₄ /l	4 ml	Mit Milli-Q Wasser auf 100mL auffüllen
200µg NH ₄ /l	2 ml	Mit Milli-Q Wasser auf 100mL auffüllen
100µg NH ₄ /l	1 ml	Mit Milli-Q Wasser auf 100mL auffüllen
50µg NH ₄ /l	0,5 ml	Mit Milli-Q Wasser auf 100mL auffüllen
10µg NH ₄ /l	0,1 ml	Mit Milli-Q Wasser auf 100mL auffüllen

5. Durchführung:

- Proben: Beschrifte Probenröhrchen mit deinen Probennamen. Fülle jeweils 5 mL deiner Proben mit einer Kolbenhubpipette jeweils in die jeweiligen Probenröhrchen. Wechsle die Pipettierspitze zwischen jeder Probe.
- Standardreihe: Beschrifte Probenröhrchen mit den Konzentrationen der Standardreihe. Vergiss nicht, dass du auch ein Röhrchen für Milli-Q Wasser brauchst. Fülle jeweils 5 mL der Konzentrationen deiner Standardreihe mit einer Kolbenhubpipette in die jeweiligen Probenröhrchen. Wechsle die Pipettierspitze zwischen jeder Konzentration.
- Füge 2,5ml Mischlösung mit einer Kolbenhubpipette zu den Proben und zu den Konzentrationen deiner Standardreihe. Du kannst dieselbe Spitze verwenden, aber tauche sie nicht in die Proben oder Standardreihe ein.
- Füge 1ml DCI-Lösung mit einer Kolbenhubpipette zu jedem Röhrchen und mische es. Vorsicht: Verwechsle nicht die Kappen der Röhrchen, wenn du sich nach dem Öffnen wieder verschließt.
- Warte 15 min.

6. Messung am Photometer:

- Messe die Extinktion mit einer 1 cm Küvette bei 690nm Wellenlänge.

- Fülle zunächst Milli-Q Wasser in die Küvette und führe den Nullabgleich durch.
- Fülle nun das Milli-Q Wasser mit den Reagenzien in die Küvette und messe die Extinktion.
- Spüle die Küvette mit Milli-Q Wasser aus.
- Fülle die niedrigste Konzentration deiner Standardreihe in die Küvette, messe die Extinktion und spüle die Küvette. Nimm dann die nächsthöhere Konzentration deiner Standardreihe und wiederhole den Vorgang.
- Nach der Standardreihe misst du deine Proben.

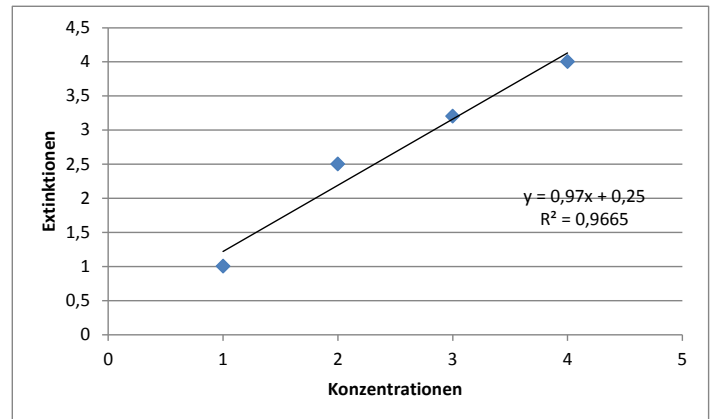
7. Berechnung der Konzentrationen:

Die Standardreihe ist eine Reihe von ansteigenden Konzentrationen deiner Substanz (z.B. Ammonium). Sie stellt eine Verbindung zwischen der Konzentration und der Extinktion her. So wird es gemacht:

Trage in einem Punktdiagramm die Konzentrationen deiner Standardreihe gegen die gemessenen Extinktionen auf.

Berechne die Regressionsgerade: Markiere die Punkte, drücke die rechte Maustaste; klicke auf „Trendlinie hinzufügen“ und markiere „linear“, „Formel anzeigen“ und „Bestimmtheitsmaß darstellen“.

Aus der Formel kannst du dir nun die Konzentrationen deiner Proben ausrechnen. Du setzt die gemessene Extinktion für x ein und berechnest y (=Konzentration).



8. Literatur:

Laut ÖNORM L1091