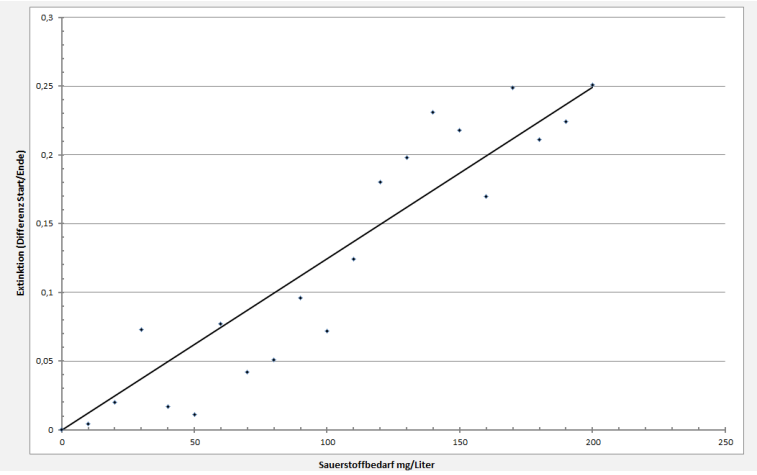
Landeshauptstadt Hannover

Hannover

Schulbiologiezentrum



19.78

Gewässergütebestimmung mit dem Photometer

Chemischer Sauerstoffbedarf und Chlorophyllgehalt

Juni 2015

Herausgeber: Landeshauptstadt Hannover
Schulbiologiezentrum Hannover

Titel:

Gewässergütebestimmung mit dem Photometer

Chemischer Sauerstoffbedarf und Chlorophyllgehalt

Titelbild: Ingo Mennerich

Arbeitshilfe 19.78

Verfasser: Ingo Mennerich unter Mitarbeit von Hendrika van Waveren und Mareike Fischbeck (Eichgeraden Chlorophyllgehalt/ O_2-Bedarf) und Dr. Birgit Krewer (Korrekturen)

Fotos/Grafiken: Ingo Mennerich

Herausgeber: Landeshauptstadt Hannover
Fachbereich Bibliothek und Schule
Schulbiologiezentrum
Vinnhorster Weg 2
30419 Hannover
Tel: 0511/168-47665
Fax: 0511/168-47352
E-Mail: schulbiologiezentrum@hannover-stadt.de
Internet: www.schulbiologiezentrum.info

Inhalt

Einige Sätze vorweg

Biologischer und chemischer Sauerstoffbedarf (BSB / CSB)

Gewässergüteklassen I - IV, Biologischer und chemischer Sauerstoffbedarf

Kurzzeit-Manganometrie" als zur groben Einschätzung der Gewässergüte

Kaliumpermanganat als Oxidationsmittel

Grundversuch I: Kaliumpermanganat "verbrennt" Glucose
Grundversuch II: Entfärbung des Kaliumpermanganats durch Glucose
Grundversuch III : Wie GV II aber ohne Säurezugabe

Kaliumpermanganat-Verbrauch als Maß für den Sauerstoffverbrauch

Herstellung einer $KMnO_4$-Indikatorlösung

Einfache "Manganometrie" durch Tropfenzählen

Test ohne Einwirkung von Wärme

"Schnelltest" im heißen Wasserbad

Arbeitsblatt
Abschätzen des Sauerstoffbedarfs einer Gewässerprobe (Visuell)

Praxistext:

Photometrische Erfassung der Entfärbung (mit mehreren Küvetten)

Unsere Eichgerade "Manganometrie"

Arbeitsblatt:
Photometrische Bestimmung des Chlorophyllgehalts

Arbeitsblatt:
Ermittlung des Chlorophyll-Gehaltes und Qualität eines Gewässers durch Photometrie

Einige Sätze vorweg

Die Klassifizierung eines Still- oder Fließgewässers gemäß der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie kann in der Schule, ähnlich professioneller Einstufungsmethoden, auf der biologischen und chemischen Ebene erfolgen.
Unter biologischem Aspekt steht der Saprobien-Index (SI), gemittelt aus den Saprobienwerten und Häufigkeiten bestimmter, möglichst stenöker Pflanzen- und Tierarten im Vordergrund.
Der SI lässt sich durch mit Hilfe von Pflanzen (Makrophyten-Index) und der so genannten Makrofauna bestimmen. Mit dem Begriff Makrofauna sind Tiere gemeint, die sich mit bloßem Auge oder mit der Lupe identifizieren lassen.
Bei Fließgewässern, die von Natur aus Makrofaunenarm sind, wird zunehmend das Arten- und Häufigkeitsspektrum des Phytoplanktons betrachtet.
Im Schulbiologiezentrum Hannover haben wir uns im Rahmen unseres Kursangebots "Fließgewässer-Ökologie" z.B. mit der Rolle von Kieselalgen als Bioindikator beschäftigt. Zur Zeit der Diatomeen-"Blüte" im Frühjahr ist dies eine gute Alternative zur SI-Bestimmung durch die Makrofauna.
Ein wichtiger Parameter der Gewässergüteklassifizierung ist der Brutto-Sauerstoffbedarf (BSB). Je höher der der BSB desto höher die Konzentration oxidativ abbaubarer Stoffe.
Beim BSB_5 wird der O_2-Gehalt gleich nach Probenentnahme mit der sich nach 5 Tagen einstellenden O_2-Konzentration verglichen. Dies geschieht elektrochemisch mit einer O_2-Sonde.
Eine weitere wichtige Kenngröße ist der Chlorophyllgehalt des Gewässers. Je grüner die Probe und je höher der Chlorophyllgehalt, desto trophischer (nährstoffreich) ist das Gewässer.
Die Chlorophyllkonzentration in einer Probe lässt sich durch Vergleich mit einer - selbst herstellbaren - Eichgerade relativ leicht ermitteln. Mit bloßem Auge sind Unterschiede in der Grün-Intensität verschiedener Proben nur unzureichend feststellbar. Ein Photometer kann die subjektiv nur schwer abzustufenden Nuancen erheblich besser auseinanderhalten und quantifizieren.
Der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) kann mit Hilfe von Kaliumpermanganat ($KMnO_4$) ermittelt werden: Eine $KMnO_4$-Lösung oxidiert abbaubare Stoffe und wird dabei entfärbt. Das Maß der Entfärbung ("Kaliumpermanganat-Verbrauch") lässt sich auf den vom Grad der organischen Belastung abhängigen Sauerstoffbedarf umrechnen. Die Entfärbung ist mit dem Photometer objektiver zu erfassen als mit bloßem Auge. Wir stellen eine visuelle und eine photometrische Methode vor.
Leider beruhen die uns bisher bekannten käuflichen Test-Kits auf der Verwendung spezieller, uns in Zusammensetzung und Konzentration unbekannter Reagenzien. Wir haben daher versucht, einen relativ unaufwändigen Test auf der Basis bekannter und in jeder Chemie-Sammlung verfügbarer Stoffe (Schwefelsäure und Kaliumpermanganat) zu entwickeln. Die durch die im Folgenden dargestellten Methoden gewonnenen Werte korrelieren recht gut mit auf andere Weise ermittelten Daten.
Alle Messungen wurden mit dem Photometer LF204 der Fa. Windaus, durchgeführt, das zwar im Handel nicht mehr erhältlich ist aber im Schulbiologiezentrum Hannover ausgeliehen werden kann.

Biologischer und chemischer Sauerstoffbedarf (BSB / CSB)

Organische Stoffe "belasten" ein Gewässer insofern, als das ihr natürlicher oxidativer Abbau durch Atmungsprozesse ihm Sauerstoff entzieht. Daran ist die Atmung der Pflanzen selbst und die der Konsumenten und Destruenten beteiligt. Bei ungenügender O_2-Zufuhr zum Beispiel durch Photosynthese oder physikalischen Eintrag kommt es zur Verknappung und zu anaeroben Abbauprozessen. Dabei entstehen Giftstoffe (z.B. Schwefelwasserstoff) die zum "Umkippen" des Gewässers oder Teilen desselben führen können. Je stärker die Zufuhr von die Primärproduktion normalerweise limitierenden Nährsalzen (Stickstoff, Phosphor usw.), desto stärker die Gefahr der "Überdüngung".

Eine Methode, solche Gefahren zu erkennen ist die Messung des Sauerstoffbedarfs. Der O_2-Bedarf eines Gewässers ist mit dem Grad seiner "Trophie" gekoppelt. Je höher er ist, desto saprober ist ein Gewässer, d.h. je ausgeprägter die Neigung, von oxidativen, aeroben Verhältnissen zu anaeroben Fäulnisprozessen überzugehen.

Üblich ist es, den Biologischen Sauerstoffbedarf in 5 Tagen (BSB_5) zu messen.

Dazu wird der Sauerstoffgehalt im Wasser (mg O_2/Liter) zum Zeitpunkt der Probenentnahme und nach 5 Tagen in Dunkelheit (keine Photosynthese, nur Atmung) bestimmt.

- Der Sauerstoffhalt einer Wasserprobe wird bestimmt, entweder chemisch, bei uns z.B. mit dem Aquanal-Wasseruntersuchungskoffer, oder elektrochemisch mit der Sauerstoff-Sonde (Windaus Oxymeter)
- Der Rest des Probenwassers wird in dunkler Umgebung(!) bei etwa 20°C gelagert.
- Nach 5 Tagen wird der Sauerstoffgehalt erneut gemessen.
- Die Differenz zwischen dem Sauerstoffgehalt zum Zeitpunkt der ersten Messung und dem Sauerstoffgehalt nach 5 Tagen ist der BSB_5.

Beispiel:

- Aktueller Sauerstoffgehalt: 10 mg/l
- Sauerstoffgehalt nach 5 Tagen: 6 mg/l
- BSB_5: 4 mg/l

Diese Methode ist leicht durchzuführen benötigt aber eben Zeit. Zeit, die während eines Kurstages nicht zur Verfügung steht. Hier bleibt nur, eine bereits 5 Tage alte Probe mit vorher bestimmtem Wert zu messen.

Der Chemische Sauerstoffbedarf (CSB) erfasst alle oxidierbaren Stoffe, also auch diejenigen, die von Bakterien und Protozoen nicht abgebaut werden können. Der CSB liegt daher stets höher als der BSB.

Gewässergüteklassen I - IV, biologischer und chemischer Sauerstoffbedarf

GGKl	Saprobitätsstufe:	BSB_5 [mg/L O_2]:	CSB_{KMnO4} [mg/L O_2]:
I	unbelastet	1	2 - 15
I/II	gering belastet	1 - 2	
II	mäßig belastet	2 - 6	15 - 40
II/III	kritisch belastet	5 - 10	
III	stark verschmutzt	7 - 13	40 - 100
III/IV	sehr stark verschmutzt	10 - 20	
IV	übermäßig verschmutzt	> 15	> 100

Quellen:
BSB: Richard Pott / Dominique Remy, Gewässer des Binnenlandes, Ulmer Verlag, Stuttgart 2008
CSB: Martin Wendel: Methoden zur Gewässergütebestimmung: Welche Methoden müssen angewandt und welche Werte bestimmt werden, um ein Gewässer in eine Gewässergüteklasse einzuordnen? – Grin Verlag Norderstedt, 2013

"Kurzzeit-Manganometrie" als zur groben Einschätzung der Gewässergüte

Mit der Bestimmung des Kaliumpermanganat-Verbrauchs der Probe lassen sich die 5 Tage auf wenige Minuten verkürzen.

Eine aus der Abwassertechnik stammende einfache Methode ist es, die Probe mit verdünnter Schwefelsäure anzusäuern und mit wenigen Tropfen violetter Kaliumpermanganat-Lösung zu versetzen. In Abhängigkeit vom Gehalt an abbaubaren Stoffen tritt keine oder eine starke Entfärbung auf.

- Tritt keine Entfärbung auf, ist das Gewässer nicht oder nur sehr gering belastet.
- Tritt die Entfärbung nach wenigen Minuten ein, ist die Probe gering belastet.
- Tritt die Entfärbung unter Wärmeeinwirkung ein (heißes Wasserbad) ist sie mäßig belastet.
- Tritt die Entfärbung sofort und ohne Wärmezufuhr ein, ist das Gewässer stark belastet

Leider steht diese "quick & easy"-Methode in keinem nachvollziehbaren quantitativen Zusammenhang mit dem durch den BSB-Test erfassten O_2-Verbrauch und überspannt einen sehr großen Bereich der Belastungen. Er ist daher eher ein Pi-mal-Daumen Schnelltest zur Beurteilung von Abwässern als eine Methode zur Einstufung von Gewässergüteklassen.

Unser Ziel war es daher, einen praktikablen Test zu entwickeln der

- mit einfachen, kostengünstigen und leicht in der Schule anzumischenden Reagenzien auskommt
- der kein Erhitzen der Proben erfordert und daher auch im Gelände anwendbar ist
- einen nachvollziehbaren (stöchiometrischen) Zusammenhang zwischen der Menge der zugetropften Reagenzien und dem Sauerstoffverbrauch herstellt (Anzahl Tropfen/O_2-Verbrauch)
- dessen Aussagewert sich am biologisch ermittelten Saprobien-Index und auf andere Weise gewonnenen chemischen Parametern messen lässt
- sowohl eine einfache optische Beurteilung (durch Farbvergleich) als auch eine zahlenmäßige Analyse (z.B. durch Photometrie) ermöglicht.

Kaliumpermanganat als Oxidationsmittel

Kaliumpermanganat ($KMnO_4$) ist, wie Sauerstoff, ein Oxidationsmittel. $KMnO_4$ kann die Oxidation durch Sauerstoff simulieren. Bei der Oxidation tritt Entfärbung des violetten $KMnO_4$ ein, und zwar so lange, wie chemisch leicht oxidierbare Stoffe vorhanden sind.
Mit Hilfe einer Kaliumpermanganat-Lösung definierter Konzentration ist es möglich, den Permanganat-Verbrauch (PV) bis zum Aufhören der Entfärbung festzustellen.
Aus dem PV lässt sich der theoretische O_2-Verbrauch berechnen, der zum Abbau leicht oxidierbarer organischer Verbindungen in der Wasserprobe notwendig gewesen wäre.

Grundversuch I: Kaliumpermanganat "verbrennt" Glucose

- $KMnO_4$ und Glucose zu gleichen Teilen vermischen
- Wenige Tropfen 25%ige Schwefelsäure dazugeben und umrühren.
- Thermometer in Gemisch halten

Ergebnis: Glucose "verbrennt" unter Wärmeabgabe

Grundversuch II: Entfärbung des Kaliumpermanganats durch Glucose

10 ml Leitungswasser	10 ml Leitungswasser + 1 Messerspitze Traubenzucker (Glucose)
+ 5 Tropfen Schwefelsäure	+ 5 Tropfen Schwefelsäure
+ 3 Tropfen Kaliumpermanganat	+ 3 Tropfen Kaliumpermanganat
Keine Entfärbung	Zügige Entfärbung

Probe links:
10 ml Leitungswasser mit 5 Tropfen H_2SO_4 angesäuert und mit 3 Tropfen Kaliumpermanganat-Lösung versetzt.
Nach 1 Stunde keine Entfärbung (kein oxidierbarer Stoff enthalten)

Probe rechts:
10 ml Glucose-Lösung mit 5 Tropfen H_2SO_4 angesäuert und mit 3 Tropfen Kaliumpermanganat-Lösung versetzt.
Nach 1 Stunde deutliche, aber nicht vollständige Entfärbung (Glucose teilweise oxidiert).

Ergebnis:
Je höher die Zuckerkonzentration, desto schneller und vollständiger entfärbt sich die Probe.

Grundversuch III : Wie GV II aber ohne Säurezugabe

10 ml Leitungswasser	10 ml Leitungswasser + 1 Messerspitze Traubenzucker (Glucose)
+ 3 Tropfen Kaliumpermanganat	+ 3 Tropfen Kaliumpermanganat
Keine Entfärbung	Sehr langsame Entfärbung Ausfall von wasserunlöslichem Braunstein

Ergebnis:
Ohne Säurezugabe sehr langsame Entfärbung und starke Braunsteinbildung

Kaliumpermanganat-Verbrauch als Maß für den Sauerstoffverbrauch

Kaliumpermanganat (**$KMnO_4$**) ist ein kristalliner Feststoff.
Die violette Farbe ist durch Lichtabsorption und "Charge Transfer", also Ladungsübertragung von den Liganden (formal 4 O^{2-}) zum Metall (formal Mn^{7+}) zu erklären. $KMnO_4^-$ absorbiert Licht der Wellenlänge 560 nm (grün). Daher erscheint eine $KMnO_4$ -Lösung violett (Komplementärfarben rot/blau).

Kaliumpermanganat dissoziiert in wässriger Umgebung zu K^+ und MnO_4^- -Ionen.
Im Folgenden betrachten wir nur noch das Permanganat-Ion und seine Eigenschaften.

Das Permanganation MnO_4^- ist ein starkes Oxidationsmittel, d.h. es besitzt eine starke Neigung, Elektronen von anderen Stoffen aufzunehmen und sie damit zu oxidieren. Durch die Aufnahme von Elektronen wird es selbst reduziert.
Die Oxidation z.B. von Glucose durch Permanganat-Ionen ist daher eine Redox-Reaktion:

- Glucose wird oxidiert (gibt Elektronen ab)
- Permanganat wird reduziert (nimmt Elektronen auf)

Das Redoxpotenzial von Permanganat ist stark pH-abhängig:

Im sauren Milieu (hohe Protonen-, d.h. H^+ -Konzentration) gilt:

$$MnO_4^-(aq) + 8\,H^+(aq) + 5\,e^- \leftrightarrow Mn^{2+}(aq) + 4\,H_2O(l)$$

8 Protonen (H^+) verbinden sich mit 4 Sauerstoffionen (O^{2-}) zu 4 Wassermolekülen (H_2O). Deshalb ist das Redoxpotenzial des Systems im sauren Milieu (hohe Protonenkonzentration) besonders hoch (Gleichgewichtsverschiebung).

Bei dieser Reaktion werden pro Permanganat-Ion 5 Elektronen aufgenommen.

Das violette Permanganat-Ion (MnO_4^-) geht dabei in den farblosen Zustand (Mn^{2+}) über.

Im Permanganat MnO_4^- besitzt das Mangan seine höchste Oxidationszahl +7.
Hohe Oxidationszahl → stark oxidierende Eigenschaften (Elektronenaufnahme)
Niedrige Oxidationszahl → stark reduzierende Eigenschaften (Elektronenabgabe)

Berechnung der Oxidationszahl des Mangans im MnO_4^-:

Es gilt (als Formalismus)

- Sauerstoff (O) hat die Oxidationszahl -2
- Die Summe der Oxidationszahlen aller Atome des Ions ist gleich seiner Ladung (hier -1)

O → -2
MnO_4^- → -1
Mn → X

X + 4(-2) = -1
X = +7 => Mn^{7+}

Das elektrische Normalpotenzial E^o des Permanganats ist bei pH 0 mit +1,51 sehr positiv.
Damit kann es (in saurem Milieu) anderen Stoffen Elektronen "entreißen", d.h. sie oxidieren.

Im Vergleich dazu die Oxidation durch Sauerstoff (O_2):

$O_2(g) + 4\ H^+(aq) + 4\ e^- \leftrightarrow 2\ H_2O(l)$

Ein Sauerstoffmolekül verbindet sich mit 4 Protonen (H^+) zu 2 Wassermolekülen (H_2O).
Dabei werden pro O_2-Molekül 4 Elektronen aufgenommen.

Das Verhältnis der aufgenommenen Elektronen zwischen MnO_4^- und O_2 ist also 5/4 = 1,25.
Um die gleiche Stoffmenge zu oxidieren wie durch die Stoffmenge (n)MnO_4^- , muss daher theoretisch (n*1,25) O_2 zugeführt werden.

Mit diesem Faktor (1,25 = 5/4) lässt sich der Kaliumpermanganat-Verbrauch in Sauerstoffverbrauch umrechnen. Die sich daraus ergebende Sauerstoffmasse bezeichnet man als Oxidierbarkeit der Wasserprobe.

Herstellung einer $KMnO_4$-Indikatorlösung

Vorgehensweise:

- Zunächst wird eine $KMnO_4$ - Lösung mit 0,01 mol/L hergestellt.

$KMnO_4$	
Kalium	39,1 $g \cdot mol^{-1}$
Mangan	54,94 $g \cdot mol^{-1}$
Sauerstoff	16 $g \cdot mol^{-1}$
$KMnO_4$	(39,1 + 54,94 + 4*16) $g \cdot mol^{-1} \approx 158\ g \cdot mol^{-1}$

$KMnO_4$ -Lösung der Konzentration 0,01 mol/L:
1,58 g $KMnO_4$ in 1 Liter Aqua dest. gelöst (oder 0,158 g in 100 ml)

- Dann wird eine 15%ige Schwefelsäure (z.B. aus 25%iger Schwefelsäure) hergestellt

50 ml H_2SO_4 (25%ig) werden mit Aqua dest. auf 83 ml aufgefüllt (15/25 = 0,6, 50 ml/0,6 = 83,3 ml)

In mehrere Reagenzgläser wird jeweils 20 ml Probenwasser gefüllt.
Jede Probe wird mit 10 Tropfen 15%iger Schwefelsäure angesäuert.
Der ersten Probe wird 1 Tropfen 0,01 molare $KMnO_4$ - Lösung hinzugefügt, der zweiten Probe 2 Tropfen usw.

- Das Volumen (V) der Probe (incl. der hinzugefügten Schwefelsäure) ist bekannt.
- Das Volumen eines Tropfens wird zu 0,05 ml bestimmt.
- Die Stoffmenge n der $KMnO_4$ -Lösung (0,01 mol/L) ist bekannt.
- Daraus lässt sich Stoffmenge n des in einem Tropfen enthaltenen $KMnO_4$ errechnen.

Ein Tropfen $KMnO_4$ - Lösung enthält 0,79 g /1000 ml * 0,05 ml = 0,0000395 g = 0,0395 mg $KMnO_4$

Bezogen auf 1 Liter:

$$\frac{KMnO4/Tropfen}{Probenvolumen} = \frac{KMnO4/Liter}{Liter}$$

$$\frac{0{,}0395mg}{10ml} = \frac{x\,mg}{1000ml}$$

x = 3,95 mg

1 Tropfen $KMnO_4$ - Lösung in 10ml Probenwasser steht für etwa 4 mg $KMnO_4$ /Liter

Wie viel $KMnO_4$ muss der Probe hinzugegeben werden, damit eine dauerhafte Violettfärbung eintritt?
Violettfärbung der Probe tritt ein, wenn das Permanganat-Ion mangels weiterer oxidierbarer Stoffe keine Elektronen mehr aufnehmen kann, d.h. nicht mehr zum farblosen Mangan(II)-Ion reduziert wird

- Je weniger Tropfen Permanganat-Lösung entfärbt werden, desto geringer ist die Konzentration der in der Probe enthaltenen oxidierbaren Stoffe.
- Je mehr Tropfen Permanganat-Lösung entfärbt werden, desto höher ist die Konzentration der in der Probe enthaltenen oxidierbaren Stoffe.

Aus dem auf einen Liter hochgerechneten Kaliumpermanganat-Verbrauch lässt sich mit dem Faktor 1,25 der Sauerstoffbedarf in Mol pro Liter ermitteln.

Tropfenvolumen 0,05 ml (20 Tropfen = 1 ml)

m ($KMnO_4$) in 1 Tropfen	158 mg / 100 ml * 0,05 ml = 0,079 mg
Probenvolumen	20 ml (der 50ste Teil eines Liters)
m ($KMnO_4$) in 1 Tropfen auf 1 Liter hochgerechnet	(0,079 mg*50 = 3,95 mg)

1 Tropfen $KMnO_4$ -Lösung entspricht 3,95 mg $KMnO_4$ pro Liter
Das entspricht einer Stoffmenge von 3,95 mg/(158 g/mol) = 0,025 mmol $KMnO_4$ pro Liter
und einem O_2-Äquivalent von 0,025 mmol *1,25 = 0,03125 mmol pro Liter.
Umgerechnet in die Sauerstoffmasse ergibt sich 0,03125 mmol * 32 g/mol = 1 mg O_2 pro Liter.

Daraus ergibt sich folgende einfache Zuordnung zwischen Gewässergüteklasse und Anzahl der Tropfen $KMnO_4$ i-Lösung:

GGKL	**O2-Befarf$_{KMnO4}$ [mg/L O_2]:**	**Anzahl Tropfen Indikator**
I	2 - 15	2 - 15
I/II		
II	15 - 40	15 - 40
II/III		
III	40 - 100	40 - 100
III/IV		
IV	> 100	> 100

Einfache "Manganometrie" durch Tropfenzählen

Jeder Tropfen der Indikatorlösung zeigt einen Verbrauch von 1 mg O_2/Liter an.
Das gilt für ein Tropfenvolumen 0,05 ml, einer $KMnO_2$-Stoffmenge von 0,01 mol/Liter und einem Probenvolumen von 20 ml.

Achtung: Die im Folgenden benutzten, zum Photometer LF204 von WINDAUS passenden Küvetten haben ein für unsere Zwecke nutzbares Volumen von nur 10 ml.

Entweder muss dann die Zahl der Tropfen halbiert werden (1 Tropfen → 2 mg O_2/Liter) oder die Indikatorlösung auf 50% verdünnt werden.

Test ohne Einwirkung von Wärme:

In jede Küvette wurde 10 ml der Gewässerprobe gegeben und diese mit 5 Tropfen Schwefelsäure versetzt.

Der ersten Küvette wurde 1, der zweiten 2, der dritten 3 Tropfen Indikatorlösung hinzugegeben.

Die Indikatorlösung wurde auf 50% verdünnt (Probenvolumen 10 statt 20 ml!)

1 Tropfen → 1 mg O_2/Liter

Nach 5 Minuten:

Proben # 1,2,3 sind vollständig, die alle weiteren nur teilweise entfärbt

Bis zu diesem Zeitpunkt wurden danach umgerechnet etwa 12 mg Kaliumpermanganat pro Liter verbraucht.

Das entspricht 3 mg O_2/Liter.

Nach 10 Minuten:

Proben # 1,2,3 und 4 sind vollständig entfärbt, alle weiteren nur teilweise.

Bis zu diesem Zeitpunkt wurden danach umgerechnet etwa 16 mg Kaliumpermanganat pro Liter verbraucht.

Das entspricht 4 mg O_2/Liter.

"Schnelltest" im heißen Wasserbad:

Untersuchung einer Gewässerprobe aus unserem "Mercedes-Teich":

- 1 Tropfen Indikator entspricht 2 mg O_2/Liter
- Beide Proben wurden mit H_2SO_4 angesäuert.

Die linke Probe wurde mit 10 Tropfen Indikatorlösung versetzt.

Die rechte Probe wurde mit 5 Tropfen Indikatorlösung versetzt.

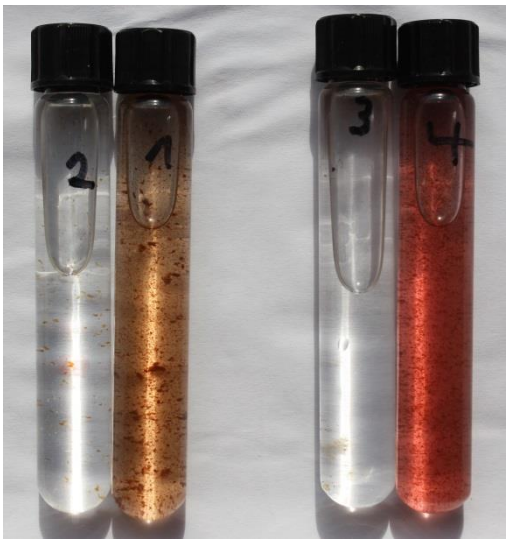
Beide Proben wurden 30 Minuten lang in ein Wasserbad von 80°C gestellt.

Ergebnis:

Die linke Probe wurde nur schwach entfärbt:
→ < 20 mg O_2/Liter

Die rechte Probe wurde vollständig entfärbt:
→ > 10 mg O_2/Liter

Das entspricht der GGKl II / II - III



Wenn die Proben nicht ausreichend angesäuert werden bildet sich unter Permanganat-Verbrauch Braunstein (MNO_2) der nicht wasserlöslich ist und ausfällt.

$MnO_4^- + 4H^+ + 3e^- \rightarrow MnO_2 + H_2O$

Die Proben nehmen dann zunächst eine bräunliche Farbe an und werden farblos wenn sich der Braunstein abgesetzt hat.

Links:
Schwach angesäuerte Proben

Rechts:
Stark angesäuerte Proben

Schulbiologie zentrum Hannover

Abschätzen des Sauerstoffbedarfs einer Gewässerprobe (Visuell)

Material:

- Kaliumpermanganat-Lösung (0,01 mol/l)
- Schwefelsäure (25%), ACHTUNG: ÄTZEND!
- Pipetten
- Reagenzgläser
- Heißes Wasserbad

Kaliumpermanganat ($KMnO_4$) ist ein starkes Oxidationsmittel.
$KMnO_4$ dissoziiert in wässriger Lösung zu K^+ und MnO_4^- -Ionen.
Das gelöste Permanganat MnO_4^- ist violett.
Durch die Oxidation chemisch und biologisch leicht oxidierbarer Stoffe wird das Permanganat-Ion unter sauren Bedingungen zu Mangan (Mn^{2+}) und Wasser (H_2O) abgebaut.
Dabei wird die Lösung farblos.

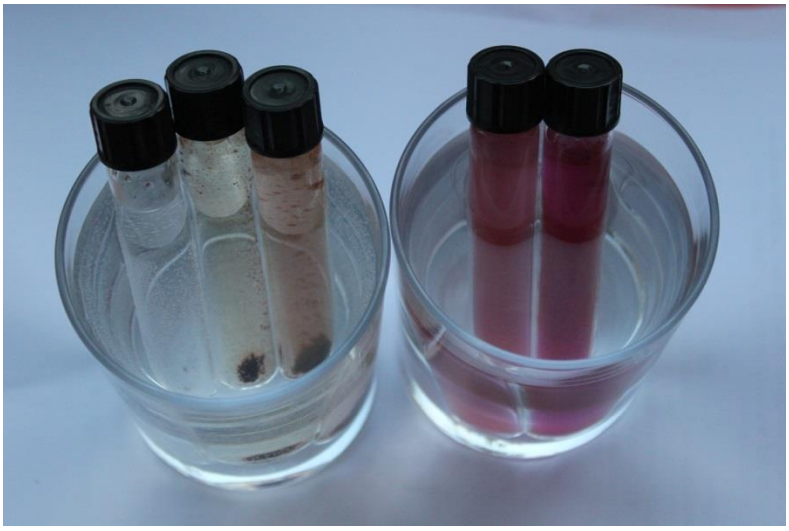
Der Eintritt der **Entfärbung** ist daher ein Maß für den Kaliumpermanganat-Verbrauch.
Der $KMnO_4$-Verbrauch spiegelt die Konzentration leicht oxidierbarer Stoffe und damit den **Sauerstoffbedarf** im Gewässer wider.

- Gib in jedes Reagenzglas jeweils 20 ml Probenwasser
- Füge jeder Probe so viele Tropfen Schwefelsäure (25%) wie Tropfen $KMnO_4$-Lösung hinzu
- Gib 10 Tropfen Kaliumpermanganat-Lösung (0,01 mol/l) in die erste Probe
- Gib 20 Tropfen Kaliumpermanganat-Lösung (0,01 mol/l) in die zweite Probe usw.
- Stelle die Proben in ein Wasserbad mit der Anfangstemperatur 100°C.
- Tritt nach Abkühlung eine Entfärbung von violett nach farblos auf?

Probe #	Anzahl Tropfen $KMnO_4$	Entfärbung
1	10	□ ja / □ nein
2	20	□ ja / □ nein
3	30	□ ja / □ nein
4	40	□ ja / □ nein
5	50	□ ja / □ nein

1 Tropfen $KMnO_4$-Verbrauch entspricht bei 20 ml Probenvolumen einem Bedarf
von 1 mg O_2 pro Liter.
Gemessener O_2-Verbrauch (Oxidierbarkeit) der Gewässerprobe: _____ mg/Liter.

Beispiel:



Gewässerprobe Stöckener Bach, GGKl III (nach SI und chemischen Parametern)

- Vollkommene Entfärbung mit 10, 20 und 30 Tropfen.
- Starke Entfärbung mit 40 Tropfen
- Geringe Entfärbung mit 50 Tropfen

Daraus folgt:

Der Sauerstoffbedarf ist

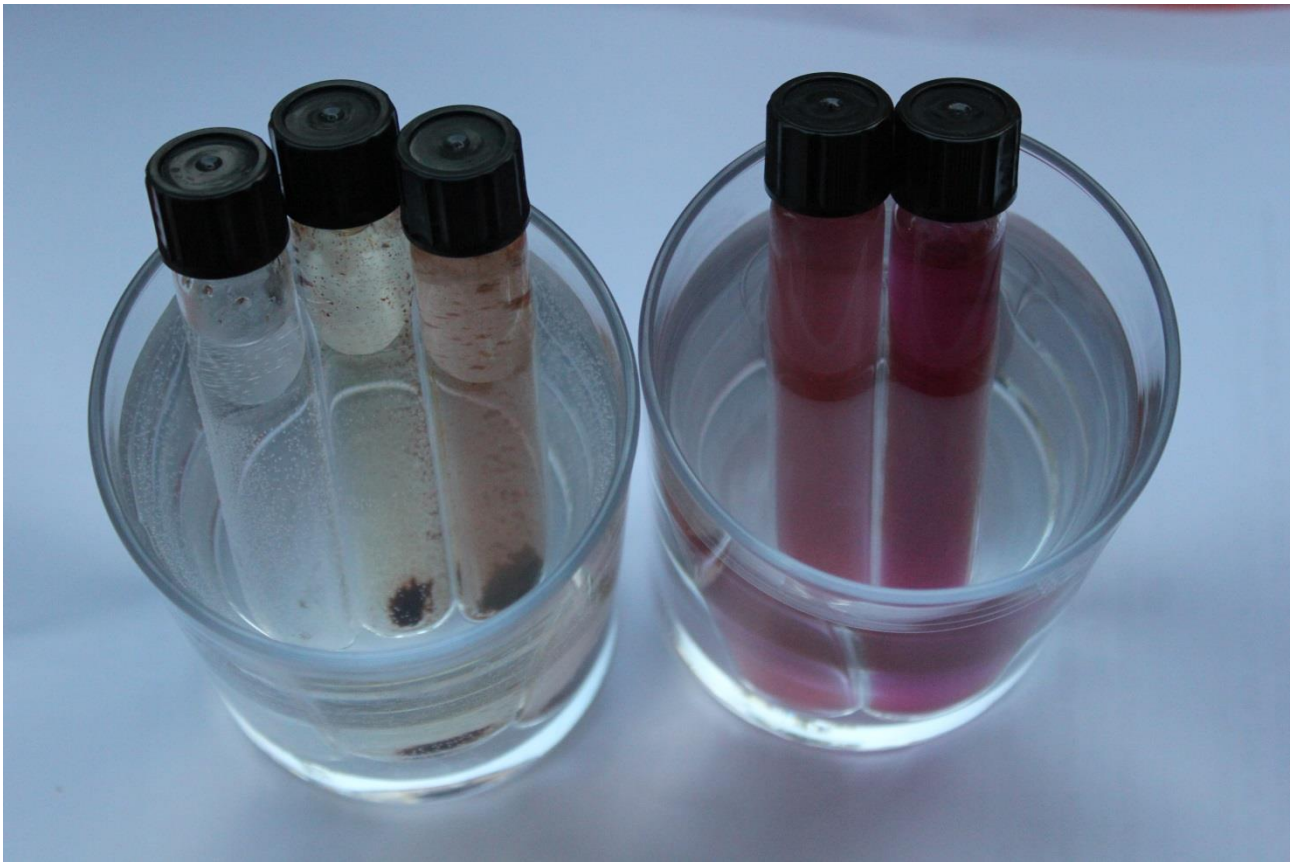
- größer als 30 mg/Liter
- geringer als 60 mg/Liter

O_2-Bedarf und Gewässergüteklassen (GGkl)

GGKl	O_2-Bedarf$_{KMnO4}$ [mg/L O_2]:	Anzahl Tropfen Indikator
I	2 - 15	2 - 15
I/II		
II	15 - 40	15 - 40
II/III		
III	40 - 100	40 - 100
III/IV		
IV	> 100	> 100

Praxistext:

Im folgenden Test wurde eine Gewässerprobe aus dem durch das Schulbiologiezentrum fließenden Stöckener Bachs untersucht.



Von links nach rechts: 10 bis 50 Tropfen $KMnO_4$-Lösung in heißem Wasserbad.

- Der Ansatz mit 10 Tropfen ist vollständig entfärbt.
- 20 Tropfen (20 mg O_2/Liter) führen zu schwacher Gelbfärbung (Braunstein).
- Die Grenze der Entfärbung scheint bei 30 Tropfen, d.h. 30 mg O_2/Liter zu liegen.
- Oberhalb davon bleiben die Proben violett.

Daraus kann man schließen, dass der Sauerstoffbedarf bei >30mg/L und <60mg/L liegt.

Die dem O_2-Bedarf zugeordnete Gewässergüteklasse ist damit III.
Das stimmt mit anderen Werten (Saprobienindex, O_2-Gehalt usw.) gut überein.

Grenzen der Methode:
Der Test funktioniert im Gewässergütebereich I - III recht gut, bei höheren simulierten Belastungen muss deutlich mehr $KMnO_4$ hinzugegeben werden als erwartet.
Die Zahl der hinzugefügten Tropfen H_2SO_4 muss der Zahl der Tropfen $KMnO_4$ angepasst werden.

Photometrische Erfassung der Entfärbung (mit mehreren Küvetten)

Gemessen wird bei 565 nm (grün). $KMnO_4$ absorbiert bei 560 nm.
10ml Probenwasser werden in 10 mit Nummern versehenen Küvetten gegeben, mit jeweils 5 Tropfen H_2SO_4 versetzt und durch Schwenken durchmischt.
Im abgedeckten Schacht wird zunächst der Nullabgleich durchgeführt (Anzeige "0,000").
Danach werden in der Reihenfolge der nummerierten Küvetten 1, 2, 3, usw. Tropfen $KMnO_4$-Lösung hinzugegeben.
Jede Probe wird durch kurzes heftiges Schwenken gut durchmischt und sofort in den abgedunkelten Schacht gestellt.
Der erste abgelesene Extinktionswert ist der "Startwert". Er sinkt in der Folge auf einen bestimmten "Endwert" (Anzeigewert sinkt nicht mehr, oder nur noch sehr langsam).

Ein Test mit einer Gewässerprobe unseres "Mercedes-Teichs" ergab folgendes Ergebnis.

$KMnO_4$ M 0,005, 10 ml Probenwasser + 5 Tropfen H_2SO_4 (15%)

Probe #	Anzahl Tropfen	$KMnO_4$ (mg/L)	Extinktion 565 nm (grün)		Entfärbung
			Start	Ende (3 Minuten)	%
1	1	4	0,016	0,000	100%
2	2	8	0,026	0,000	100%
3	3	12	0,045	0,000	100%
4	4	16	0,078	0,013	83%
5	5	20	0,089	0,023	74%
6	6	24	0,096	0,046	52%
7	7	28	0,124	0,071	43%
8	8	32	0,135	0,080	40%
9	9	36	0,154	0,100	35%
10	10	40	0,171	0,114	33%

Der Kurzzeit -Test (etwa 3 Minuten) des Gewässers ("Mercedes Teich") liegt in diesem Fall bei 12 mg $KMnO_4$/Liter. Oberhalb davon trat keine vollständige Entfärbung auf.
.
Das entspricht einem Bedarf von <15 mg/Liter O_2 der GGKL II was mit dem aus den Saprobienwerten und Häufigkeitsklassen der Tiere ermittelten Saprobienindex (SI) übereinstimmt..

Der "Glucose-Gleichwert" und das Eichen mit definierten Glucose-Lösungen

- Kann man die organische Belastung eines Gewässers mit Hilfe von Glucose-Lösungen simulieren?
- Kann man mit definierten Glucose-Lösungen den Aussagewert unseres Tests überprüfen?

Im Folgenden wird angenommen, dass Kaliumpermanganat (mit der Oxidationsstufe VII) Glucose vollständig oxidieren kann. Unter dieser Voraussetzung stehen $KMnO_4$, Glucose und der zu ihrer Oxidation notwendige Sauerstoff in einem berechenbaren stöchiometrischen Verhältnis.

$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 = 6H_2O + 6CO_2$

Das heißt, zum vollständigen oxidativen Abbau von 1 mol Traubenzucker werden 6 mol Sauerstoff benötigt.

1 mol Glucose	= 6*12 + 12*1 + 6*16	= 180 g
1 mol Sauerstoff	= 2*16	= 32 g
6 mol Sauerstoff	= 6*2*16	= 192 g

Um 1 Mol Glucose (180 g) vollständig zu oxidieren werden 6 Mol O_2 (192 g) benötigt

Um 1 g Glucose vollständig zu oxidieren werden 192/180 =1,067 g O_2 benötigt

1 g O_2 oxidiert 1/1,067 = 0,937 g Glucose

In Milligramm ausgedrückt gilt:

- Um 1 mg Glucose vollständig zu oxidieren werden 192/180 =1,067 mg O_2 benötigt.
- 1 mg O_2 oxidiert etwa 0,937 mg Glucose

Aus dieser Beziehung lässt sich ein "Glucose-Gleichwert" für den Sauerstoffbedarf der Gewässergüteklassen bestimmen:

GGKl	**O_2-Bedarf [mg/L O_2]:**	**Glucose [mg/L]:**
I	2 - 15	1,9 - 14,1
I/II		
II	15 - 40	14,1 - 37,5
II/III		
III	40 - 100	37,5 - 93,7
III/IV		
IV	> 100	> 93,7

Mit diesen Werten lässt sich unsere bisher nur aus dem der Oxidationswirkung von $KMnO_4$ bzw. O_2 berechnete Methode zusätzlich eichen.

Achtung:
Bei der Bestimmung der Eichgerade und photometrischen Messung haben wir 25%ige Schwefelsäure verwendet um die Braunsteinbildung zu reduzieren.
Um die Reaktion zu beschleunigen wurden die Proben 5 Minuten lang in ein heißes Wasserbad gestellt (60-70°C).

Unsere Eichgerade "Manganometrie"

- 10 ml Glucose-Lösung (10 mg/l - 200 mg/L in Zehnerschritten)
- 5 Tropfen $KMnO_4$ (M 0,01)
- 10 Tropfen H_2SO_4 (25%)

10 ml Glucose-Lösung in Küvette (LF204) geben, $KMnO_4$ und H_2SO_4 hinzutropfen

- Proben In Messküvetten geben,
- Extinktion (START) messen.
- 5 Minuten im Wasserbad legen (60-70°C)
- Danach erneut Extinktion messen
- Differenz $Extinktion_{START}$ – $Extinktion_{ENDE}$ berechnen
- O2-Bedarf aus der Eichgeraden ermitteln

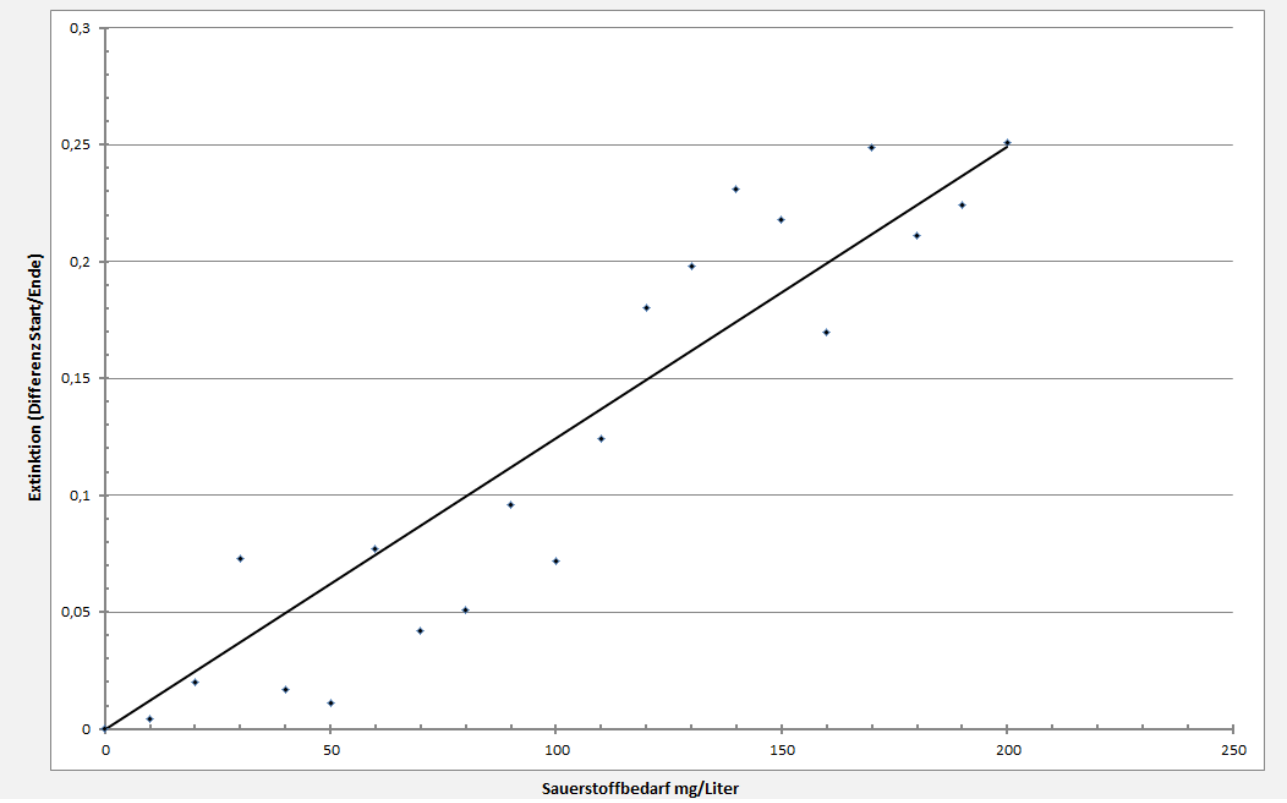
Glucose-Konzentration	Extinktion START	Extinktion (ENDE)	Differenz Extinktion
0 mg/L	0	0	0
10 mg/L	0,285	0,281	0,004
20 mg/L	0,271	0,251	0,020
30 mg/L	0,271	0,198	0,073
40 mg/L	0,24	0,223	0,017
50 mg/L	0,272	0,261	0,011
60 mg/L	0,269	0,192	0,077
70 mg/L	0,268	0,226	0,042
80 mg/L	0,272	0,221	0,051
90 mg/L	0,261	0,165	0,096
100 mg/L	0,278	0,206	0,072
110 mg/L	0,262	0,138	0,124
120 mg/L	0,264	0,084	0,18
130 mg/L	0,273	0,075	0,198
140 mg/L	0,289	0,058	0,231
150 mg/L	0,242	0,024	0,218
160 mg/L	0,221	0,051	0,17
170 mg/L	0,298	0,049	0,249
180 mg/L	0,249	0,038	0,211
190 mg/L	0,245	0,021	0,224
200 mg/L	0,273	0,022	0,251

Trotz konstantem Probenvolumen und stets gleicher Tropfenzahl lässt es sich nicht vermeiden, das der Startwert der Extinktion von Probe zu Probe etwas unterschiedlich ausfällt.
Dafür können vor allem unterschiedliche Tropfengrößen verantwortlich gemacht werden.
Variierende Startwerte haben natürlich auch Auswirkungen auf die Endwerte.
Wir haben uns daher entschlossen, die Differenz zwischen beiden Werten zum Maß des Sauerstoffbedarfs zu machen.
Auch diese streuen recht stark um die Trendlinie herum.

Dass wir die Trendlinie trotzdem zur "Eichgeraden" erheben hat folgende Gründe:

- Die Methode ihrer Erstellung ist von Schülern praktisch nachvollziehbar.
- Die Methode muss keine im wissenschaftlichen Sinne exakten Ergebnisse liefern
- Die mit unseren Photometern gewonnenen Ergebnisse stimmen im Praxistest recht gut mit den aufgrund anderer Untersuchungen(SI, O_2-/NO_3^--/NO_2^--/PO_4^--Gehalt, Chlorophyll-Konzentration usw.) recht gut überein.

Eichgerade



Beispiel:

Die Differenz der Extinktionswerte (Start - End) wird zu 0,1 bestimmt.
Daraus ergibt sich eine Chlorophyll-Konzentration von 80µg/Liter.

Schulbiologie zentrum Hannover

Messung des Sauerstoffbedarfs einer Gewässerprobe (photometrisch)

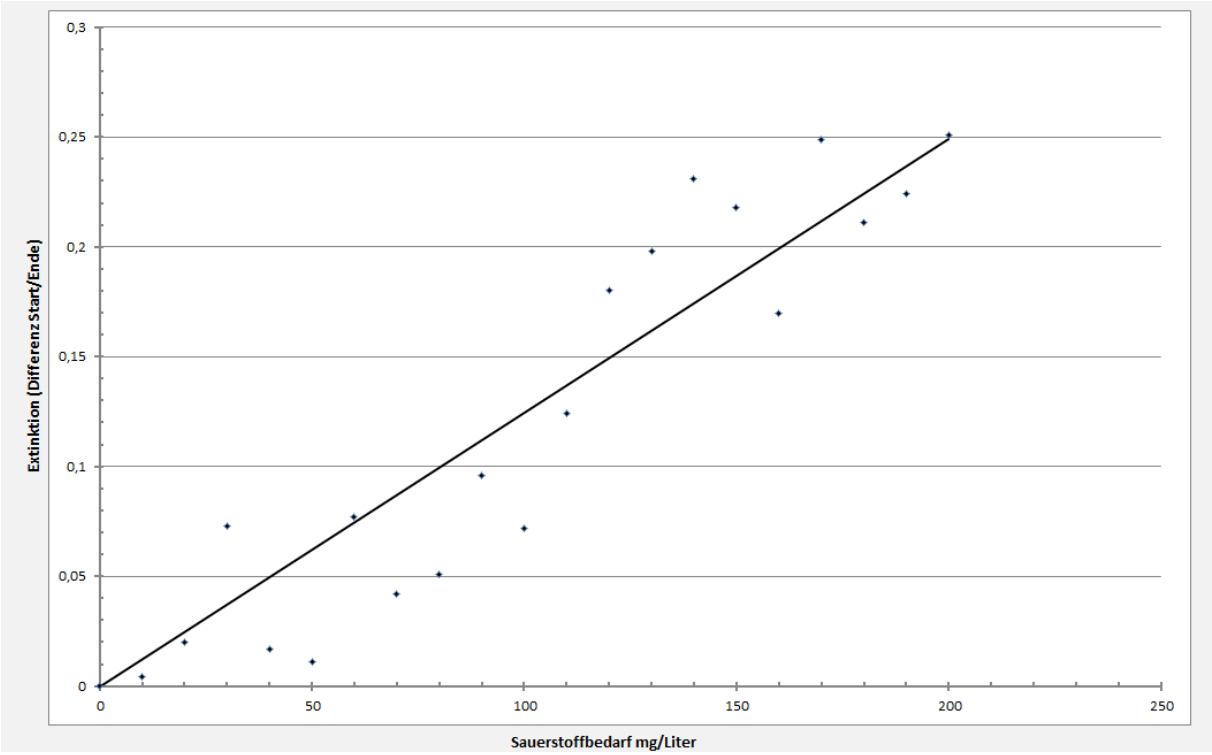
Material:

- Kaliumpermanganat-Lösung (0,01 mol/l)
- Schwefelsäure (25%), ACHTUNG: ÄTZEND!
- Pipetten
- Küvetten
- Photometer (LF204 WINDAUS)
- Heißes Wasserbad (60 - 70°C)

Kaliumpermanganat ($KMnO_4$) ist ein starkes Oxidationsmittel.
$KMnO_4$ dissoziiert in wässriger Lösung zu K^+ und MnO_4^- -Ionen.
Das gelöste Permanganat MnO_4^- ist violett.
Durch die Oxidation chemisch und biologisch leicht oxidierbarer Stoffe wird das Permanganat-Ion unter sauren Bedingungen zu Mangan (Mn^{2+}) und Wasser (H_2O) abgebaut.
Dabei wird die Lösung farblos.

Der Eintritt der **Entfärbung** ist daher ein Maß für den Kaliumpermanganat-Verbrauch.
Der $KMnO_4$-Verbrauch spiegelt die Konzentration leicht oxidierbarer Stoffe und damit den **Sauerstoffbedarf** im Gewässer wider.

- Stelle das Photometer auf 565nm (grün) ein.
- Führe einen Null-Abgleich mit reinem Wasser durch.
- Gib 10 ml der von Trübstoffen freien Gewässerprobe in die Küvette.
- Füge ihr 10 Tropfen Schwefelsäure (25%) und 5 Tropfen $KMnO_4$-Lösung hinzu.
- Schwenke die Probe gut um.
- Messe die Extinktion ("START").
- Stelle die Proben in ein Wasserbad mit 60 - 70°C.
- Messe erneut die Extinktion ("ENDE").
- Berechne die Differenz "$\text{Extinktion}_{START}$" - "$\text{Extinktion}_{ENDE}$".
- Lies den Sauerstoffbedarf (mg O_2/Liter) an der Eichgeraden ab.



Beispiel:

Differenz $Extinktion_{START}/Extinktion_{ENDE}$ = 0,250

O_2-Bedarf = 200 mg/Liter

Gemessener O_2-Verbrauch (Oxidierbarkeit) der Gewässerprobe: _____ mg/Liter.

Zuordnung des gemessenen Werts zur Gewässergüteklasse

GGKL	O_2-$Bdarf_{KMnO4}$ [mg/L O_2]:
I	2 - 15
I/II	
II	15 - 40
II/III	
III	40 - 100
III/IV	
IV	> 100

Der O_2-Verbrauch entspricht der Gewässergüteklasse _____

Die Eichgerade wurde im Schulbiologiezentrum Hannover durch Messung der Extinktion (Start-/Endwert) von Glucose-Lösungen der Konzentrationen 10 - 200mg/L (in Zehnerschritten) ermittelt.
Durch Zugabe von Schwefelsäure wurde ein saures Milieu hergestellt.
Die gewählte $KmnO_4$-Konzentration entspricht bei 10 ml Gewässerprobe einem O_2-Bedarf von 2mg/Liter pro Tropfen.
Die Messung wurde mit dem Photometer LF204 der Fa. Windaus durchgeführt
Die Temperatur des (die Reaktion beschleunigenden) Wasserbades lag zwischen 60 und 70°C.
Die Messwerte sind im EXCEL-Diagramm als Punkte wiedergegeben. Die Eichgerade ist die Trendlinie.

Photometrische Bestimmung des Chlorophyllgehalts

Unser "Algen-Bioreaktor enthält planktische Algen der Gattung Scenedesmus.

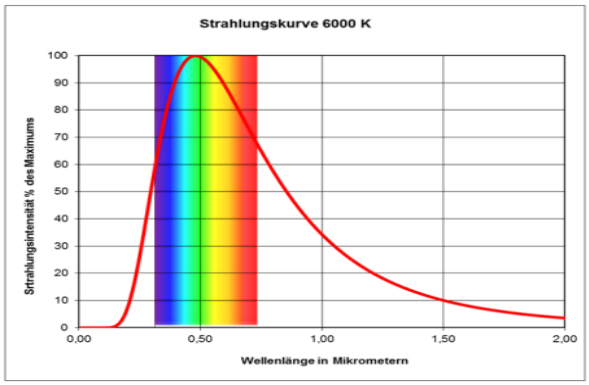
Der "Reaktor" wird täglich einmal mit CO_2 durchgast und wöchentlich mit einem Algen-Dünger "gefüttert".

Hohe Düngegaben führen zu erhöhter Konzentration der Algen und damit zu einer stärkeren "Vergrünung".

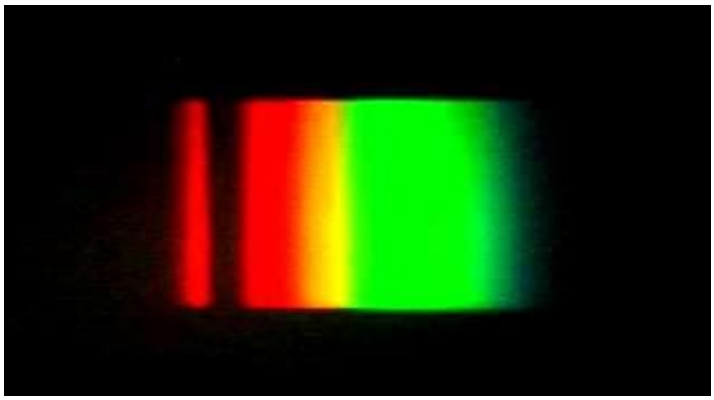
Die Intensität des Grüns ist im Umkehrschluss ein Maß für die Konzentrationen von Stickstoff und Phosphor die wiederum einen Hinweis auf die Gewässergüteklasse liefern.

GGKl	Chlorophyllgehalt µg/L
I	< 1 - 4
I/II	3 - 8
II	7 - 30
II/III	25 - 50
III	50 - 100
III/IV	
IV	>100

Chlorophyll absorbiert im blau-violetten und in begrenztem Maße auch im roten Spektralbereich des Sonnenlichts.



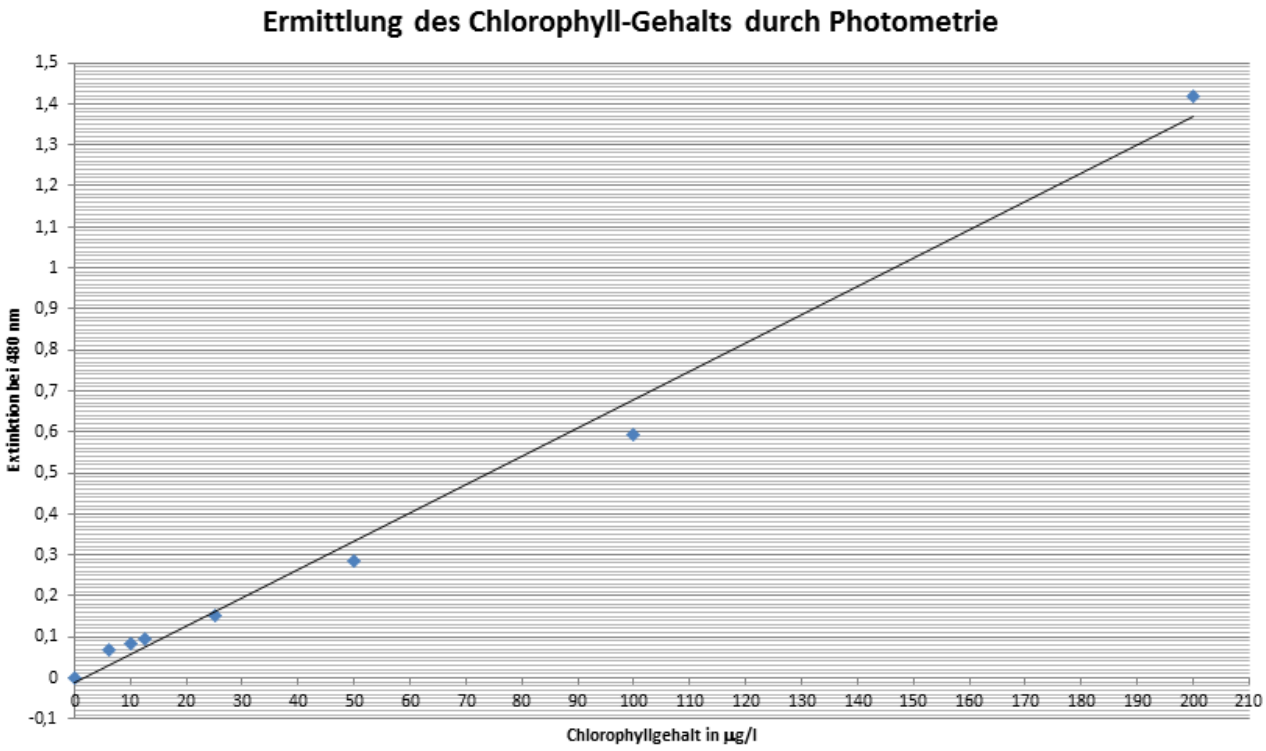
Spektrum des Sonnenlichts und Strahlungsverteilung



Absorption durch Chlorophyl im Spektroskop

Daher werden die photometrischen Messungen im blauen Bereich bei der Wellenlänge 480nm durchgeführt.

Zur Ermittlung der Eichgeraden haben wir 1 g Chlorophyll-Natriumsalz in 200 ml Aqua dest. gegeben und in mehreren Stufen auf Testlösungen zwischen 0 - 200 µg/Liter verdünnt. Die Werte wurden in eine EXCEL-Tabelle eingegeben und als Diagramm dargestellt. Die Trendlinie ist die Eichgerade.



Die Extinktionswerte die zur "Eichgerade" führen streuen erheblich weniger als bei der Ermittlung der Extinktion unterschiedlich konzentrierten und mit Kaliumpermanganat versetzten Glucose-Lösungen.

Ermittlung des Chlorophyll-Gehaltes und Qualität eines Gewässers durch Photometrie

GGKl	Trophiestufe	Saprobitätsstufe:	Chlorophyllgehalt µg/L*
I	oligotroph	unbelastet	< 1 - 4
I/II	mesotroph	gering belastet	3 - 8
II	eutroph	mäßig belastet	7 - 30
II/III	eu- bis polytroph	kritisch belastet	25 - 50
III	polytroph	stark verschmutzt	50 - 100
III/IV	poly- bis hypertroph	sehr stark verschmutzt	
IV	polytroph	übermäßig verschmutzt	>100

') Werte nach POTT/REMY: Gewässer des Binnenlandes

- Je höher der Nährstoffgehalt (Nitrat, Phosphor usw.) desto "grüner" das Gewässer
- Je "grüner" das Gewässer, desto höher der Chlorophyll-Gehalt
- Je höher der Chlorophyll-Gehalt, desto höher die Konzentration oxidierbarer Stoffe
- Je höher die Konzentration oxidierbarer Stoffe desto höher der Sauerstoffbedarf
- Je höher der Sauerstoffbedarf desto größer die Gefahr,
  dass das Ökosystem "Bach" oder "Teich" zusammenbricht ("umkippt")

Je "grüner" das Gewässer, desto "trophischer" und desto problematischer seine Qualität.

Ermittlung des Chlorophyllgehalts durch Photometrie

Zur Beurteilung des Eutrophierungsgrades von Fließgewässern wird die Phytoplankton-Biomasse als biologische Kenngröße herangezogen. Dabei wird die Konzentration des Chlorophyll a als Hilfsgröße genutzt.
Ein Wert von mehr als 20 µg/l Chlorophyll a im Saisonmittel (April–Oktober) deutet auf problematische Verhältnisse.
Der Chlorophyllgehalt kann durch Photometrie ermittelt werden.
Hierbei wird die Extinktion der Probe bei 480 nm (blau) gemessen.

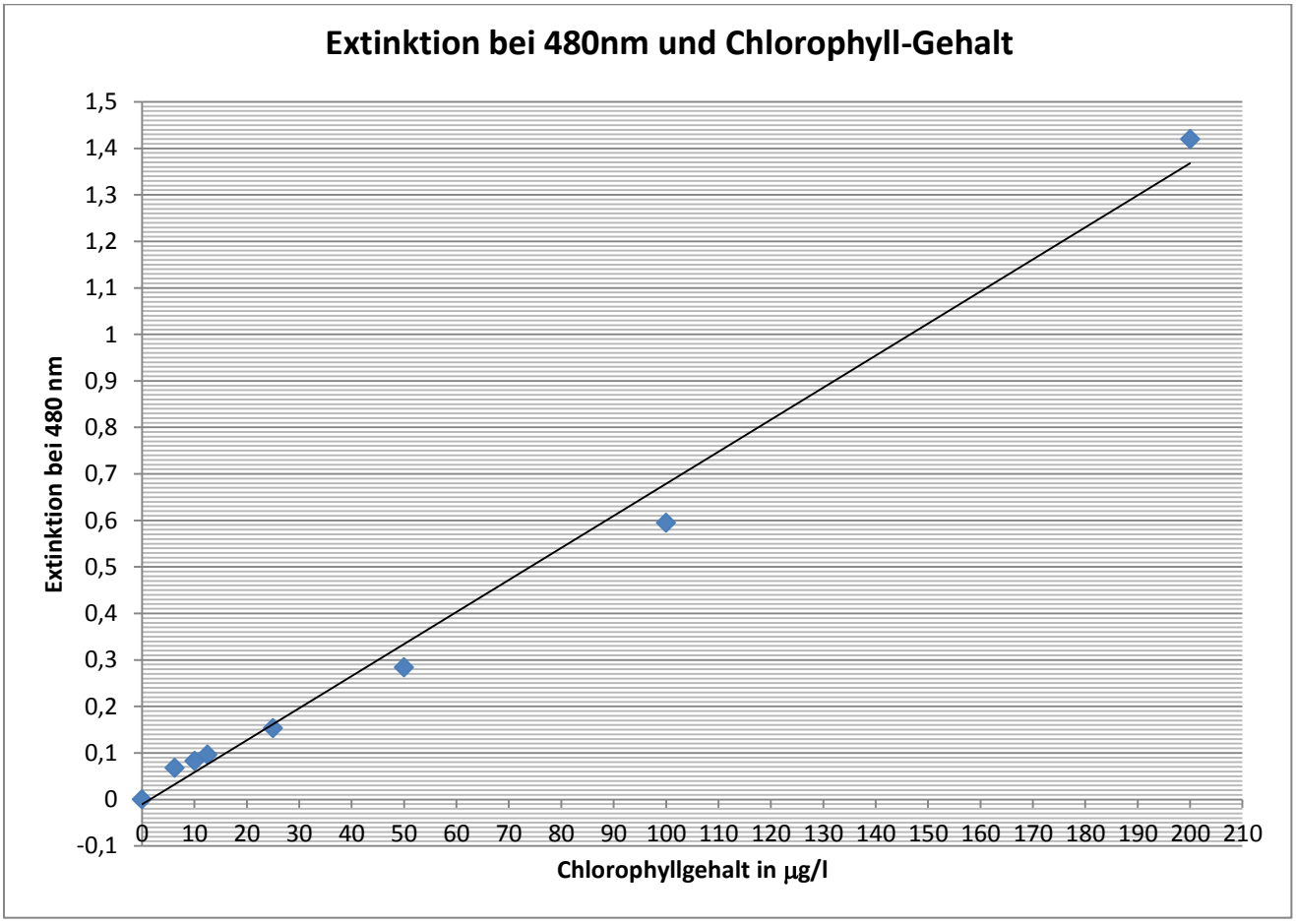
Vorgehensweise:

- Fülle die erste Küvette mit Leitungswasser.
- Fülle die zweite Küvette mit der Gewässerprobe.
- Schalte das Photometer ein und wähle die Wellenlänge 480 nm (blau).
- Führe den Nullabgleich ("0,00") mit Leitungswasser durch. Decke die Küvette mit dem Röhrchen ab.

- Wasche die zweite Küvette einmal mit der Probe aus und fülle sie erneut mit der Probe. Achte darauf, dass Probe vor dem Messen gut durchmischt ist.
- Trockne die Küvette außen gut ab bevor du sie in den Lichtschacht stellst, decke sie mit dem Röhrchen ab und lies den Extinktionswert ab.
- Schalte das Gerät aus, spüle beide Küvetten aus und trockne sie gut ab.

Auswertung:

- Ordne den gemessenen Extinktionswert an der Eichgeraden einem entsprechenden Chlorophyll-Wert zu.



Diese Eichgrade wurde mit Hilfe einer Verdünnungsreihe einer Chlorophyll-Natriumsalzlösung und dem Photometer LF204 (WINDAUS) erstellt.

Beispiel:
Ein Extinktionswert von 0,1 entspricht einem Chlorophyll-Gehalt von etwa 15 µg/Liter

Extinktions-Wert: _____

Chlorophyll-Gehalt: _____ mg/Liter