

Quantitative Bestimmung von Schwermetallen in Rotwein mittels TXRF und ICP-OES

**Skript zu den Versuchen TXRF & ICP-OES im Rahmen des
Grundmoduls Analytische Chemie
Wintersemester 2024/2025**

Die erstmalige Abgabe beider Protokolle soll spätestens am dritten Werktag nach der Durchführung des Versuchs ICP-OES erfolgen. Korrekturen ebenfalls am dritten Werktag nach Erhalt der Korrekturhinweise. Jede Gruppe fertigt ein Protokoll zum TXRF- und zum ICP-OES-Versuch an.

Betreuer ICP-OES: Maximilian Schulz smaximil@uni-mainz.de

Betreuer TXRF: Maximilian Schulz smaximil@uni-mainz.de

1 Einführung

Wein ist hinter Bier das beliebteste alkoholische Getränk Deutschlands. Während der Bierkonsum seit Jahren kontinuierlich abnimmt, bleibt der Weinkonsum konstant. 2020 trank jeder Deutsche im Durchschnitt 20,7 Liter Wein. Die Region Rheinhessen, in der auch die Johannes-Gutenberg Universität liegt, ist dabei mit einer Rebfläche von 26.800 ha das größte Anbaugebiet Deutschlands.

Als Qualitätsmerkmal von Wein dient unter zahlreichen anderen der Gehalt verschiedener Metalle. Zu hohe Kupfer- und Eisengehalte sind beispielsweise für eine Trübung des Weins verantwortlich (frz. *casse*), die zu den sogenannten Weinfehlern zählt. Zusammen mit Mangan werden diese Metalle außerdem für eine schnellere Oxidation der polyphenolischen Weinbestandteile verantwortlich gemacht, die die sensorische Qualität und Haltbarkeit beeinträchtigen sowie Niederschläge von kondensierten phenolischen Komponenten verursachen können. Bei Zink handelt es sich außerdem um ein für den Menschen essentielles Spurenelement, das jedoch auch toxisch wirken kann, falls zu hohe Dosen aufgenommen werden.

Metalle können auf vielen verschiedenen Wegen in den Wein gelangen. Zum einen bereits vor der Ernte durch kontaminierte Böden oder metallhaltige Dünger und Pestizide, zum anderen während der Verarbeitungsstufen. Hier werden beispielsweise Maschinen und deren Schmieröle sowie Lagerbehälter als Quellen der Kontamination diskutiert.

Zur Elementanalyse kommt – je nach Anwendung – häufig die induktiv-gekoppelte Plasmaemissionsspektrometrie (ICP-OES) zum Einsatz. Diese Technik ist für die meisten Fragestellungen ausreichend nachweisstark, robust, einfach zu handhaben sowie relativ preisgünstig und gut automatisierbar, was einen hohen Probendurchsatz ermöglicht. Im Falle von komplexen Matrices, zu denen auch Wein zählt, wird diese zur Vermeidung von starken Matrixeffekten in der Regel abgetrennt. Dies wird im Praktikumsversuch durch einen sogenannten Aufschluss erreicht. Als komplementäres Verfahren wird außerdem die Totalreflexionsröntgenfluoreszenzanalyse (TXRF) eingesetzt. Diese kann als Direktverfahren einen entscheidenden Vorteil gegenüber der ICP-OES und dem zeitaufwendigen Aufschluss bieten, der zudem eine nicht zu vernachlässigende Kontaminationsgefahr birgt. Demgegenüber ist die Messzeit pro Probe jedoch außergewöhnlich hoch (je nach Anforderung mehrere Stunden).

Im Rahmen dieses Versuchs sollen die Elementkonzentrationen der Metalle Cu, Fe, Mn und Zn **in einer von den Praktikumsteilnehmern mitgebrachten Rotweinprobe (ca. 50 mL)** direkt sowie nach vorherigem Aufschluss bestimmt werden. Die beiden Verfahren sollen anschlie-

ßend bezüglich Richtigkeit, Präzision, Nachweisvermögen, Kontaminationsgefahr, Arbeitsaufwand und Probendurchsatz verglichen werden. Die Ergebnisse aus dem Versuchsteil ICP-OES mit abgetrennter Matrix sollen dabei als „Referenzwerte“ angenommen werden.

2 Grundlagen

Induktiv gekoppelte Plasmen finden in der Elementanalytik eine breite Anwendung. Sie stellen eine besonders hohe Energiedichte zur Verfügung, mit der eine eingebrachte Probe nicht nur verdampft und atomisiert, sondern auch Elemente angeregt und sogar ionisiert werden kann. Im Gegensatz zu Flammen, die beispielsweise in der AAS/AES verwendet werden und eine geringere Temperatur als das ICP aufweisen, kann mit den im ICP vorherrschenden hohen Temperaturen eine Vielzahl der Elemente zur Emission von Strahlung angeregt werden. Weitere Informationen sind der Vorlesung „Vertiefende Atomspektrometrie“ sowie einschlägiger Primär- und Sekundärliteratur zu entnehmen.

Die Grundlagen zur **Totalreflexionsröntgenfluoreszenzanalyse** sind der Vorlesung „Vertiefende Atomspektrometrie“ sowie einschlägiger Primär- und Sekundärliteratur zu entnehmen.

Ziel eines **quantitativen Aufschlusses** ist es zunächst, die Probe mit den für die Analyse relevanten Elementen in eine lösliche Form zu überführen. Ein Aufschluss wird beispielsweise für feste Proben wie Gesteine und Gläser in Verbindung mit Techniken, die eine flüssige Probe erfordern (z.B. ICP-OES mit pneumatischer Zerstäubung), nötig. Nötig sind Aufschlüsse auch dann, falls die Probenmatrix zwar flüssig ist, jedoch starke Matrixeffekte verursacht und daher vor der Analyse abgetrennt werden muss.

Qualitative Aufschlüsse sind Ihnen aller Wahrscheinlichkeit nach bereits im Bachelor-Studium begegnet, dazu zählen die im Anorganischen Chemie 1 Praktikum durchgeführten Soda-Pottasche- und Freiburger Aufschlüsse. Für die quantitative Spurenanalytik werden jedoch andere Anforderungen an die Methoden, Reagenzien sowie die Sauberkeit der Gefäße gestellt. Insbesondere die hohen Temperaturen der genannten **Schmelzaufschlüsse** sorgen für Verluste zahlreicher Analyten. Aus diesem Grund werden Aufschlüsse mit Flüssigkeiten bevorzugt. Verwendet wird im Rahmen des Praktikums Salpetersäure, die die organische Probenmatrix des Rotweins im Idealfall vollständig zu CO_2 und H_2O oxidiert. Außerdem wird H_2O_2 zugesetzt, das selbst ein starkes Oxidationsmittel ist und sich außerdem bei höheren Temperaturen leicht zersetzt und O_2 freisetzt. Der Sauerstoff wiederum reoxidiert die entstehenden Stickoxide zu

Salpetersäure und verschiebt so das Gleichgewicht auf die Produktseite (dieselbe Verbesserung der Aufschlussqualität wird erreicht, falls die Aufschlussbehälter vor dem Aufschluss unter eine Überdruck-Sauerstoffatmosphäre verschlossen werden). Um die Reaktionsgeschwindigkeit zu erhöhen, können die Aufschlüsse in druckverschlossenen Teflongefäßen durchgeführt werden, die in einer Mikrowelle platziert werden. Die beteiligten Moleküle absorbieren aufgrund ihres Dipolmoments die Mikrowellenstrahlung, sodass sich der Gefäßinhalt erwärmt. Aufgrund der freigesetzten Gase erhöht sich auch der Druck erheblich. Temperaturen von 260 °C und Drücke von 50 bar sind bei den im Arbeitskreis Bings verwendeten Behältern ohne Bersten möglich. Innerhalb dieses Praktikums kann aufgrund der geringen Komplexität der Rotwein-Matrix jedoch auf einen solchen zeitaufwendigen **mikrowellenassistierten Druckaufschluss** verzichtet werden. Hier genügt zur Oxidation der Matrix ein **offener Ausschluss**.

3 Versuchsdurchführung

Im Folgenden soll kurz die theoretische Durchführung der Versuche beschrieben werden, die als Grundlage für den Experimentalteil im jeweiligen Protokoll dienen soll.

3.1 Versuchsdurchführung (TXRF)

Für den offenen Aufschluss werden 5 mL des Rotweins **zuerst** mit 2 mL Wasserstoffperoxid (30 %) und **anschließend** mit 5 mL Salpetersäure (65 %) dreimal jeweils in ein Zentrifugenröhrchen gegeben. Anschließend werden die Proben zusammen mit einer Blindprobe (Blindprobe = möglichst alle Reagenzien in denselben Mengen, nur ohne Probe) für ca. 30 Minuten mit aufgelegtem Uhrglas in einem Wasserbad bei 80 °C erwärmt bis die Lösung farblos ist. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden die vier Aufschlusslösungen quantitativ in einen 25 mL-Messkolben überführt und mit Reinstwasser aufgefüllt. Anschließend werden die Lösungen in Zentrifugenröhrchen umgefüllt.

Zur Herstellung der Probenlösung für die direkte Bestimmung wird zunächst mithilfe einer Eppendorf-Pipette 1 mL des Rotweins in ein Schnappdeckelglas pipettiert, wobei die genaue Masse notiert wird. Anschließend werden zur internen Standardisierung 10 µL eines Gallium-Einzelementstandards (Konzentration 100 mg/L) zugegeben (genaue Masse notieren) und die Lösung homogenisiert. Jeweils 10 µL der Probenlösung werden danach vorsichtig in die Mitte dreier Quarz-Probenträger pipettiert (= Dreifachbestimmung), unter einer Infrarot-Lampe trocknen gelassen und mittels TXRF analysiert. Mit den vier zuvor hergestellten Aufschlusslösungen wird analog verfahren (jeweils Einfachbestimmung. Insgesamt werden also vier Schnappdeckelgläser und sieben Probenträger benötigt). Folgende Messparameter werden verwendet: Beschleunigungsspannung 600 kV, Heizstrom 60 mA, Messzeit 3000 s (direkt) bzw. 10000 s (aufgeschlossen, warum ist das so?).

Die Zentrifugenröhrchen sind sinnvoll zu beschriften und gut verschlossen im Labor bis zur Durchführung des ICP-OES-Versuchs zu lagern!

Vor deren Verwendung sind die Proben­träger einer aufwendigen Reinigungsprozedur zu unterziehen, die bereits von den Assistenten durchgeführt wurde und zur Vollständigkeit im Folgenden wiedergegeben wird:

1. Mechanische Reinigung (Aceton + fusselfreie Tücher).
2. Reinigung mit RBS-Lösung + 10 % KOH im Ultraschallbad bei 40 °C (5 % RBS; 15 min).
3. Abspülen mit Reinstwasser.
4. Reinigung mit HNO₃-Lösung im Ultraschallbad bei 40 °C (10 % HNO₃; 2 Stunden).
5. Abspülen mit Reinstwasser.
6. Reinigung mit Reinstwasser-Lösung im Ultraschallbad bei 40 °C (10 min).
7. Trocknen im Trockenschrank im Becherglas (mit Uhrglas abgedeckt) (110 °C; 1 Stunde).
8. Siliconisierung mit 10 µL Serva Siliconlösung.
9. Trocknen im Trockenschrank im Becherglas (mit Uhrglas abgedeckt) (110 °C; 30 min).

3.2 Versuchsdurchführung (ICP-OES)

Zur Bestimmung des Schwermetallgehalts in der aufgeschlossenen Probe (siehe Versuch TXRF) mittels externer Kalibrierung werden fünf Kalibrierlösungen der jeweiligen Elemente hergestellt, ausgehend von einer Stammlösung der Konzentration $c_{\text{Mn,Cu,Fe,Zn}} = 50 \text{ mg/L}$ (= 50 ppm). Zur Verringerung der Matrixeffekte aufgrund der Aufschlussreagenzien wird die Matrix der Kalibrierlösungen angepasst, es werden daher ebenfalls jeweils 5 mL Salpetersäure und 2 mL Wasserstoffperoxid zugegeben (Tabelle 1).

Für die direkte Bestimmung des Schwermetallgehaltes sollen 5 mL des Rotweins in einem 25 mL-Messkolben mit Reinstwasser auf 25 mL verdünnt werden. Zur Quantifizierung kommt eine weitere Kalibrierreihe zum Einsatz, deren Konzentrationen der vorherigen Kalibrierreihe entsprechen. Aufgrund der fehlenden Reagenzienzugabe wird diese jedoch ohne Salpetersäure und Wasserstoffperoxid angesetzt (Tabelle 2).

Anschließend werden die zehn Kalibrierlösungen und die eine Probenlösung in sorgfältig beschriftete Zentrifugenröhrchen überführt (Hintergrund: der Autosampler des Geräts benötigt eine größere Gefäßöffnung) und zusammen mit den vier Zentrifugenröhrchen der aufgeschlossenen Probe mittels ICP-OES analysiert.

Tabelle 1: Ansatz der Kalibrierlösungen für den Aufschluss.

$\beta_{\text{Mn,Cu,Fe,Zn}}$ (ppb)	$V_{\text{Stamm-Lösung}}$ (μL)	V_{HNO_3}	$V_{\text{H}_2\text{O}_2}$
0	0	5 mL	2 mL
40	20	5 mL	2 mL
200	100	5 mL	2 mL
500	250	5 mL	2 mL
1500	750	5 mL	2 mL

Tabelle 2: Ansatz der Kalibrierlösungen für die direkte Bestimmung.

$\beta_{\text{Mn,Cu,Fe,Zn}}$ (ppb)	$V_{\text{Stamm-Lösung}}$ (μL)	V_{HNO_3}	$V_{\text{H}_2\text{O}_2}$
0	0	-	-
40	20	-	-
200	100	-	-
500	250	-	-
1500	750	-	-

4 Auswertung & Protokoll

Im Rahmen der Versuche sollen mit Hilfe der ICP-OES und der TXRF die Elementgehalte in verschiedenen Proben bestimmt werden. Zur Möglichkeit einer statistischen Aussage muss zu jeder ermittelten Größe (in diesem Fall die Konzentration) ein Fehler angegeben werden.

4.1 TXRF

Sie erhalten die Rohdaten der Analysen 1-2 Tage später per E-Mail. Diese bestehen aus einer .txt-Datei je Messung, die die x- und y-Werte des jeweiligen Röntgenfluoreszenzspektrums enthält (Einheiten keV bzw. counts) sowie jeweils einer .csv-Datei mit den automatisch berechneten Integralen der Signale. Relevant sind hier die selbsterklärenden Spalten „Net“ und „Backgr.“ sowie „Sigma“ als absolute Standardabweichung.

Eine Besonderheit der TXRF gegenüber Relativmethoden wie der ICP-OES stellt die Art der Kalibrierung dar. Zur Bestimmung der Analyt-Konzentrationen ist aufgrund geringer Matrixeinfüsse lediglich ein interner Standard nötig – die Herstellung einer Verdünnungsreihe wie im Falle der externen Kalibrierung (s. ICP-OES-Versuch) oder beispielsweise der Standardaddition entfällt. Für die Bestimmung der Konzentration des jeweiligen Analyten in der jeweiligen Probe kann daher die folgende Gleichung verwendet werden:

$$\frac{c_A \cdot S_A}{N_{A,Net}} = \frac{c_{IS} \cdot S_{IS}}{N_{IS,Net}} \quad (2)$$

c : Konzentration (der Index gibt an, ob es sich um den internen Standard (IS) oder den Analyten (A) handelt); S : Gerätespezifische relative Empfindlichkeiten (s. u.); N : Netto-Signalfäche der jeweiligen Röntgenfluoreszenzlinie. Durch einfache Umstellung der Gleichung kann die jeweilige Analyt-Konzentration ermittelt werden. Der Berechnung der Unsicherheit der jeweiligen Konzentration soll mittels Gauß'scher Fehlerfortpflanzung (zu berechnende Ableitungen, berechnete Ableitungen und eingesetzte Werte an einem Beispiel zeigen) mit zwei signifikanten Stellen des Fehlers berechnet werden. Nehmen Sie die relativen Empfindlichkeiten als fehlerfrei an. Die Unsicherheit der Konzentration des internen Standards wurde bereits berechnet und beträgt $\pm 23 \mu\text{g/L}$. Geben Sie die ermittelten Konzentrationen zusammen mit den jeweiligen Unsicherheiten für alle sieben Messungen in einer übersichtlichen Tabelle an und

korrigieren Sie zusätzlich Konzentrationen der aufgeschlossenen Proben um die Konzentrationen aus der Blindprobe. Vergessen Sie bei der aufgeschlossenen Probe den zusätzlichen Verdünnungsfaktor nicht. Wie unterscheiden sich die ermittelten Konzentrationen der direkten und aufgeschlossenen Probe und was sagt das über die Matrixeffekte aus? **Vergleichen Sie die Werte außerdem mit den Ergebnissen aus dem Versuch ICP-OES in einer übersichtlichen Tabelle.**

Stellen Sie außerdem alle erhaltenen Spektren graphisch dar. Wählen Sie dabei die Skalierung der y-Achse so, dass die Signale der Analyten erkennbar sind (dadurch werden einige Signale abgeschnitten). Überlegen und recherchieren Sie außerdem, was die vier intensiven und in allen Proben vorhandenen Signale bei ca. 1,75 keV, ca. 3 keV, ca. 17 keV und ca. 17,5 keV auslöst. Um die Signale erkennen und einordnen zu können, müssen Sie eine weitere graphische Darstellung mit vollständiger y-Achse anfertigen.

Tabelle 3: Relative Empfindlichkeiten der Analyt-K-Linien.

Analyt	Relative Empfindlichkeit K-Linie
Mn	0,361703
Fe	0,459260
Cu	0,749690
Zn	0,871383
Ga	1

Weiterhin soll die Nachweisgrenze $c_{A,NWG}$ der Methode für die jeweiligen Analyten bestimmt werden. Diese wird bei Röntgenfluoreszenz-Verfahren üblicherweise direkt anhand des Spektrums der Probe berechnet (wie wird sie z.B. bei der ICP-OES bestimmt?). Grund dafür ist das Fehlen eines unbelasteten „Blindrotweins“ und die Abhängigkeit des Untergrunds von der Beschaffenheit des Probenträgers. Dazu wird Gleichung (3) verwendet, die die Netto-Signalfäche des Untergrunds $N_{A,Bkg}$ enthält. Gehen Sie bei der Berechnung von dimensionslosen Signalfächen aus. **Berechnen Sie die Nachweisgrenzen der Methode für eine Messung und vergleichen Sie diese mit den Ergebnissen aus dem Versuch ICP-OES.**

$$c_{A,NWG} = \frac{3 \cdot c_A \cdot \sqrt{N_{A,Bkg}}}{N_{A,Net}} \quad (3)$$

Vergleichen Sie abschließend TXRF und ICP-OES hinsichtlich der in der Einleitung aufgeführten Kriterien. Treffen Sie außerdem eine Aussage bezüglich der möglichen Eignung der TXRF als Direktverfahren aufgrund vernachlässigbar kleiner Matrixeffekte.

4.2 ICP-OES

Zunächst müssen die erhaltenen Signale um die jeweiligen Blindwerte korrigiert werden. Bei beiden Kalibrierreihen erfolgt die Korrektur durch Subtrahieren der Intensitäten bei 0 ppb von den jeweiligen Signalen. Beim offenen Aufschluss stellt der Blindaufschluss den zu subtrahierenden Blindwert dar. Im Falle der Direktbestimmung wird die Signalintensität des 0 ppb-Kalibrierpunkts der zugehörigen Kalibrierreihe als Blindwert verwendet (die Probe der Direktbestimmung enthält 75% Reinstwasser).

Die Berechnung der gesuchten Konzentrationen erfolgt über die hinreichend bekannte lineare Regression. Der Berechnung der Unsicherheit der jeweiligen Konzentration soll mittels Gauß'scher Fehlerfortpflanzung (zu berechnende Ableitungen, berechnete Ableitungen und eingesetzte Werte an einem Beispiel zeigen) durchgeführt werden.

Zusätzlich soll die Nachweisgrenze der verwendeten Methode berechnet werden. Die Nachweisgrenze x_{LOD} , häufig auch *limit of detection* (LOD) genannt, gibt die Konzentration an, bei der die Methode den Analyten noch mit einer hinreichenden statistischen Sicherheit qualitativ von Untergrund unterscheiden kann. Häufig wird dabei ein Messwert y_{LOD} als statistisch sicher mit mindestens $k = 3$ Standardabweichungen über dem Blindwert angenommen. y_b = Mittelwert des Blindsignals; s_b = Standardabweichung des Blindsignals

$$y_{LOD} = y_b + k \cdot s_b \quad (1)$$

Die tatsächliche Nachweisgrenze x_{LOD} ergibt sich dann durch Einsetzen von y_{LOD} in die Gleichung der Regressionsgeraden. Die Regression muss hier natürlich (!) ohne Blindwertkorrektur, also mit der Signalintensität bei 0 ppb als zusätzlichem Punkt der Kalibrierfunktion, erneut

durchgeführt werden (sonst ergibt die Definition der Nachweisgrenze keinen Sinn, häufig werden dadurch ansonsten negative Werte erhalten, bitte klar machen).

Neben den Plots aller Kalibrierfunktionen sollte das Protokoll alle bestimmten Konzentrationen, in einer einzigen übersichtlichen Tabelle zusammengefasst, enthalten. Diese sollten ebenso wie die Nachweisgrenzen mit den aus dem TXRF-Versuch erhaltenen Werten verglichen und diskutiert werden.

5 Hinweise zu den Kolloquien

Die Kolloquien zu den Versuchen ICP-OES und TXRF werden täglich vor den Versuchen im Seminarraum des Arbeitskreises durchgeführt.

Die folgenden Stichworte sollen als Orientierung zur inhaltlichen Vorbereitung auf die jeweiligen Versuche dienen.

Allgemeines:

- Aufgabenstellung beim jeweiligen Versuch
- Mikrowellenassistierter Aufschluss
- Analytische Güteziffern (z. B. Empfindlichkeit, Nachweisvermögen)
- Kalibrierstrategien

ICP-OES:

- Aufbau eines ICP-OES-Systems, allgemein und speziell des hier zum Einsatz kommenden GENESIS der Firma SPECTRO (siehe dazu z.B. Broschüren etc.)
- Detaillierte Funktionsweise der einzelnen Bauteile
- Induktiv-gekoppeltes Plasma und Anregungsprozesse, Energieübertragung in Plasmen
- Techniken der Probenzuführung mit Vor- und Nachteilen
- Aufbau, Vor- und Nachteile verschiedener Mono- und Polychromatoren
- Detektoren in der Emissionsspektrometrie
- Matrixeffekte, spektrale Interferenzen und deren Vermeidung
- Vergleich mit anderen elementanalytischen Techniken, z.B. (CS-)AAS, ICP-MS, TXRF, LIBS. Was sind die jeweiligen Vor-/Nachteile und welche Anwendungsfelder ergeben sich daraus?

TXRF:

- Physikalisches Prinzip der Röntgenfluoreszenz
- Erzeugung von Röntgenstrahlung
- Wechselwirkung von Röntgenstrahlung mit Materie
- Brechungsindex und Totalreflexion

- Aufbau eines TXRF-Systems und Funktionsweise einzelner Bauteile
- Anwendungsfelder der TXRF
- Probenvorbereitung und Kalibrierstrategien
- Matrixeffekte
- TXRF vs. RFA, Vor- und Nachteile der Verfahren
- RFA-Systeme mit Vor- und Nachteilen

6 Quellen und nützliche Literatur

- G. Schlemmer, L. Balcaen, M.W. Hinds and J.L. Todolí, *Elemental Analysis: An Introduction to Modern Spectrometric Techniques*, De Gruyter, Berlin, Boston, De Gruyter Textbook, 2019.
- M. Schmeling, *Phys. Sci. Rev.*, 2019, **4**(7).
- P. Wobrauschek, *X-Ray Spectrom.*, 2007, **36**(5), 289.
- B. Tariba, *Biol. Trace Elem. Res.*, 2011, **144**(1-3), 143.
- P. Pohl, *Trends Anal. Chem.*, 2007, **26**(9), 941.
- P. Berítez, R. Castro and C.G. Barroso, *Anal. Chim. Acta*, 2002, **458**(1), 197
- <https://www.rheinhessen.de/wein> (accessed January 21, 2020).
- <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/5384/umfrage/verbrauch-je-einwohner-an-alkohol-in-deutschland-seit-1990/> (accessed January 21, 2022).

A Anhang: Fehlerberechnung in der Analytischen Chemie

Im Folgenden soll für Interessierte kurz erläutert werden, wie in der Analytischen Chemie üblicherweise Fehler berechnet werden. Dieser Satz ist genaugenommen schon falsch, da zwischen Fehler und Unsicherheit unterschieden wird. Bei Fehlern handelt es sich z.B. um systematische Fehler wie ein Überfüllen des Messkolbens, die meistens a) nicht quantifizierbar sind und b) nur eine Abweichung in entweder positive oder negative Richtung verursachen. Die Unsicherheit hingegen ist ein Maß für die Breite der statistischen Verteilung der jeweiligen Werte (ein Intervall, daher Angabe mit $\pm$). Diese setzt sich aus den einzelnen Beiträgen verschiedener „Unsicherheits-Quellen“ zusammen wie etwa Messkolben, Pipetten und Waagen. Die Bezeichnung „Fehler“ für die eigentlich gemeinte „Unsicherheit“ hat sich trotzdem im Sprachgebrauch etabliert und wird häufig synonym gebraucht.

In der Regel kommt bei Versuchen wie diesen die „kombinierte Unsicherheit“ zum Einsatz, die die einzelnen relativen Unsicherheitsbeiträge quadriert, addiert und schließlich die Wurzel aus diesem Wert zieht (mit absoluter Unsicherheit U_n einer Komponente, z.B. $\pm 0,08$ mL eines Messkolbens, dem Wert S_n der jeweiligen Größe, z.B. 25 mL des Messkolbens). Die kombinierte Unsicherheit ist also so etwas wie eine relative Gesamtunsicherheit und muss anschließend nur noch mit der bestimmten Konzentration multipliziert werden.

$$u_c = \sqrt{\sum_{n=1}^N \left(\frac{U_n}{S_n}\right)^2} \cdot c \quad (4)$$

Im Falle des ICP-OES-Versuchs würden dazu folgende Beiträge zählen: Unsicherheit des Volumens des Messkolbens der Probe, Unsicherheiten der 5 mL-Pipette zur Abmessung der Probe, Unsicherheit der Konzentration resultierend aus der Unsicherheit bei der Berechnung der Ausgleichsgeraden (enthält die Reststandardabweichung, s. Grundvorlesung Analytische Chemie oder einschlägige Literatur). Voraussetzung für diese Berechnung ist, dass die einzelnen Fehlerbeiträge nicht korrelieren, also unabhängig voneinander sind: eine hohe Unsicherheit im Volumen des Messkolbens beeinflusst beispielsweise die Unsicherheit des Volumens der Pipette nicht.

Anders verhält sich das mit Beiträgen aus der Erstellung der Kalibrierreihe wie beispielsweise den dort auftretenden Unsicherheiten der Pipetten, Messkolben, käuflich erhältlichen Standardlösungen, Temperaturen etc. („x-Fehler“ bei der Kalibriergeraden). Diese Beiträge korrelieren mit der Reststandardabweichung und der Konzentrationsunsicherheit aus der Berechnung der Ausgleichsgeraden und können mithilfe der kombinierten Unsicherheit nicht berücksichtigt werden. Da es sich um kleine Beiträge handelt, werden diese in der Regel vernachlässigt. Falls diese doch miteinbezogen werden sollen, haben sich Monte-Carlo-Simulationen als erweiterte Verfahren etabliert. Dazu wird – vereinfachend gesagt – bis zu 10^6 -mal die finale Berechnung des Ergebnisses wiederholt, mit jeweils zufälligen Werten der beteiligten Variablen unter Berücksichtigung der jeweiligen Standardabweichung. Aus der Verteilung der Ergebnisse kann die Gesamtunsicherheit berechnet werden. Je nach Anzahl der beteiligten Variablen und Komplexität der Berechnungsformeln unterscheidet sich der Rechenaufwand stark, ist aber prinzipiell mit Excel-Sheets beherrschbar. Es konnte gezeigt werden, dass die nach diesem Verfahren erhaltenen Unsicherheiten nur geringfügig größer sind, sodass aufgrund der Einfachheit in den meisten Fällen die kombinierte Unsicherheit vorgezogen wird.

Für weitergehende Information wird auf den sehr ausführlichen und meistens auch gut verständlichen EURACHEM/CITAC Guide verwiesen: „Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements“ (https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf).