

INHALTSÜBERSICHT

Überblick	3
KOLORIMETRIE	3
Theoretische Grundlagen	3
Beer'sches Gesetz	3
Verdünnungsreihe	4
Kolorimeter	5
Ausführung kolorimetrischer Bestimmungen	6
PHOTOMETRIE	7
Einstrahlphotometer	7
Theoretische Grundlagen	7
Lambert'sches Gesetz	8
Durchlässigkeit, Transmissionsgrad, Transparenz	8
Extinktion, Extinktionskoeffizient	8
Lambert - Beer'sches Gesetz	9
Extinktionsspektrum	9
Auswahl der Wellenlänge zur Messung	10
Aufbau der Messgeräte	10
Lichtquellen	10
Filter, Monochromatoren	11
Schichtfilter	11
Prismen	11
Spaltgitter, Reflexionsgitter	11
Photoempfänger	13
Photowiderstände	13
Photodioden	13
Photodiodenarray	13
Photozellen	14
Photomultiplier, Sekundärelektronenvervielfacher	14
Küvetten	14
Zweistrahlphotometer	15
Kontrolle der Wellenlängenanzeige	16
Arbeitsweise bei photometrischen Bestimmungen	17
Vorbereitung des Messgerätes	17
Erstellung einer Kalibrierkurve	18
Bestimmung der unbekannt Probe	19

Bestimmung einzelner Proben	20
Mangan	20
Ammonium	21
Eisen	22
mit 5-Sulfosalicylsäure	22
mit 1,10-Phenanthrolin	23
Orthophosphat	24
Nitrit	25
ANHANG: Praxisbeispiele	26
Durchführung einer Phosphatbestimmung	26
Erstellung der Kalibrationskurve	26
Bestimmung der unbekanntes Probenlösung	27
Schrittweise Berechnung	28
Auswertung ohne Kalibrationskurve	28

KOLORIMETRIE – PHOTOMETRIE

ÜBERBLICK

Bei diesen beiden quantitativen Bestimmungsverfahren geht man im einfachsten Fall davon aus, dass Lösungen von gefärbten Substanzen bei gleicher Konzentration d.h. bei gleich vielen Teilchen im Milliliter, auch gleich stark gefärbt sind.

Die wichtigsten **Unterschiede zwischen den beiden Methoden** sind folgende:

In der **Kolorimetrie** wird in der Regel mit "weißem" Licht gemessen, die Messwerterfassung erfolgt mit dem Auge; bei der Messung werden die Farbstärke einer bekannten und einer unbekannt Probe aufeinander abgestimmt, was entweder durch Änderung der betrachteten Schichtdicke oder durch Änderung der Konzentration der Probenlösungen erfolgt.

In der **Photometrie** wird mit einfarbigem Licht gemessen, die Messwerterfassung erfolgt durch einen elektrischen Photoempfänger; gemessen wird die unterschiedliche Abnahme des Lichtstromes beim Durchdringen der Probenlösungen. Mit Hilfe von Kalibrierwerten, die man aus bekannten Lösungen ermittelt, wird der Gehalt der unbekannt Probe errechnet.

KOLORIMETRIE

Die Kolorimetrie wurde längere Zeit durch die Entwicklung immer besserer Photometer zurückgedrängt. Durch die Einführung sog. Schnellbestimmungen (bes. im Bereich Umweltschutz) ist sie in ihrer Bedeutung wieder gewachsen.

Theoretische Grundlagen

Die Farbintensität, d.h. die Stärke der Lichtabsorption einer Lösung, ist im Idealfall nur von der Anzahl der absorbierenden Teilchen in der Schicht, durch welche das Licht dringt, abhängig. Ist die Schicht einer Lösung z.B. nur halb so dick, erscheint aber gleich stark gefärbt wie eine Vergleichsschicht, so müssen sich in der Durchblicksrichtung gleich viele absorbierende Teilchen befinden; d.h. die erste Lösung ist doppelt so konzentriert wie die zweite Lösung.

Bei gleicher Farbtiefe gilt bei Lösungen das **BEER'SCHE GESETZ**:

$$s_1 \cdot c_1 = s_2 \cdot c_2 = \dots = s_n \cdot c_n = \text{konstant}$$

s ... Schichtdicke c ... Konzentration der Lösung

Leider ist der Idealfall oft nicht erfüllt. Besonders bei polaren oder bei großen organischen Molekülen tritt bei höheren Konzentrationen öfter eine teilweise Assoziation von mehreren Molekülen auf. Diese Teilchen absorbieren dann nicht der Anzahl der daran beteiligten Moleküle entsprechend, sondern etwas weniger. (Eine 5 mm starke Schicht einer Methylenblaulösung mit 0,3 g/L ist z.B. deutlich heller, als eine 15 mm starke Schicht einer Lösung mit 0,1 g/L !)

Um dadurch bedingte Fehler zu verhindern, darf man einerseits gewisse, meist in der Arbeitsvorschrift angegebene Konzentrationen nicht überschreiten; andererseits wird man mit Hilfe von Vorversuchen die Konzentrationen der Probenlösung und der Vergleichslösung einander möglichst anpassen. Der Unterschied sollte nicht größer als etwa 20 – 30% sein. (Bei der kolorimetrischen Methode "Verdünnungsreihe" besteht diese Fehlermöglichkeit natürlich nicht, weil am Ende der Messung die beiden miteinander verglichenen Lösungen fast genau die gleiche Konzentration besitzen sollten!)

Bei Messungen mit dem freien Auge wird die höchste Genauigkeit dann erreicht, wenn bei einer Schichtdicke von 40 mm ca. 50% des einfallenden Lichtes von der Lösung absorbiert werden. Es sind dann Genauigkeiten von ca. 3 – 5% erreichbar.

Die Beleuchtung erfolgt im Allgemeinen mit diffusem, weißem Licht. In Sonderfällen (besonders bei schwach gefärbten Lösungen) wird zur Kontraststeigerung Licht mit der Komplementärfarbe zur Probenlösung verwendet.

ANMERKUNG: Eine kolorimetrische Bestimmung ist nur dann möglich, wenn die fertige Messlösung bei Anwesenheit aller zur Farberzeugung nötigen Zusätze, aber bei $c(\text{Probe}) = 0$ (= Blindlösung) absolut farblos ist.

Sollten die eingesetzten Reagenzien auch ohne Probensubstanz bereits eine gewisse Färbung ergeben (z.B. Phosphatbestimmung), dann ist nur eine photometrische Auswertung möglich. Das menschliche Auge (aber auch eine einfache Photozelle) ist nicht in der Lage eine evtl. vorhandene Grundfärbung zu kompensieren. (Das Arbeiten mit einer Verdünnungsreihe bildet auch bei dieser Einschränkung wieder eine Ausnahme und kann auch unter diesen Umständen noch brauchbare Ergebnisse liefern.)

Verdünnungsreihe

Sie stellt eine primitive, aber in der Praxis oft gut brauchbare Möglichkeit dar, für welche man im einfachsten Fall nur wenige der üblichen Laborgeräte benötigt.

Man füllt z.B. eine größere Anzahl Eprouvetten mit gefärbten Lösungen mit bekanntem Gehalt, und vergleicht die Farbtiefe mit der unbekanntem Probenlösung in einer weiteren Eprouvette.

Das geübte menschliche Auge ist in der Lage, Farbtiefenunterschiede von ungefähr 5 – 10% festzustellen. Um diese nicht besonders hohe Genauigkeit voll auszunützen, sollte die Abstufung der Konzentrationen in den bekannten Vergleichslösungen in dieser Größenordnung liegen.

Um die Anzahl der herzustellenden Vergleichsmischungen zu begrenzen wird man bei unbekanntem Methoden zuerst eine Verdünnungsreihe mit einer sehr groben Konzentrationsabstufung (z.B. 1 : 2 : 4 : . . .) herstellen und daraus jenen Arbeitsbereich wählen in dem Farbunterschiede am besten zu erkennen sind (20 – 60% Lichtabsorption). In diesem Bereich erfolgt dann die Herstellung einer Verdünnungsreihe mit einer Abstufung von 5 – 10%.

Ähnliche Vorversuche sind auch hinsichtlich der Verdünnung bei unbekanntem Proben nötig.

Eine Steigerung der Genauigkeit ist weiters möglich, wenn auch von der unbekanntem Probenlösung eine größere Anzahl unterschiedlicher Konzentrationen (innerhalb des Arbeitsbereiches) hergestellt und einzeln ausgewertet werden.

Dem Nachteil der doch nur sehr begrenzten Genauigkeit steht der Vorteil gegenüber, dass in der Kolorimetrie mit sehr stark verdünnten Probenlösungen gearbeitet werden kann, mit denen die meisten anderen einfachen Analysenmethoden gar keine brauchbaren Ergebnisse mehr liefern. Durch entsprechend viele Parallelbestimmungen, die meist keinen wesentlich höheren Arbeitsaufwand erfordern, kann die Genauigkeit auch noch etwas gesteigert werden.

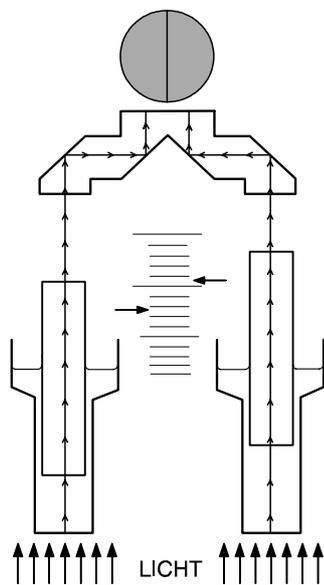
ANMERKUNG: Eine spezielle Abart der Verdünnungsreihe stellen die zahlreichen heute im Handel erhältlichen "Schnelltests zur Wasseruntersuchung" oder ähnliche Prüfsets dar. Bei diesen wird eine genau einzuhaltende Probenmenge mit den beigegebenen Reagenzien versetzt und die Intensität der auftretenden Färbung mit einer Farbstufenskala verglichen.

Diese Farbskala ist entweder auf weißem Karton oder Kunststoff aufgedruckt (Betrachtung von oben im Auflicht) oder befindet sich als eine Reihe von Farbfiltern in ein Filterrad eingebaut (Betrachtung im Durchlicht). Anwendung finden diese Sets z.B. zur schnellen Bestimmung von Nitrat, Nitrit, Phosphat, Ammonium usw. in Trink- und Abwasser gleich an Ort und Stelle. Die Genauigkeit ist sehr begrenzt (Abstufung oft nur im Verhältnis 1 : 3 : 10 : 30 : . . .), der erlaubte Konzentrationsbereich für die Probe erstreckt sich aber oft über mehrere Zehnerpotenzen.

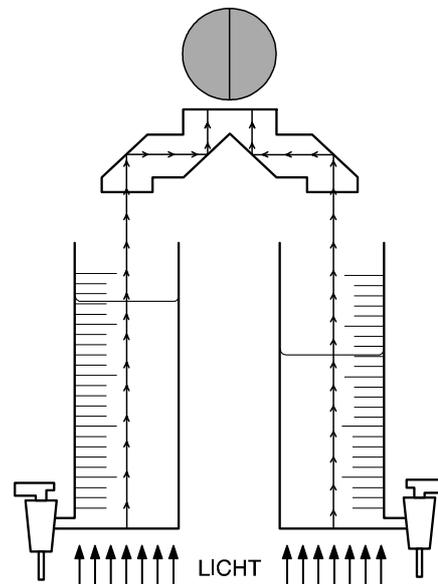
Kolorimeter

Diese Geräte wurden entwickelt um die Genauigkeit und die Arbeitsgeschwindigkeit bei kolorimetrischen Bestimmungen zu steigern.

Beispiele für einfache Kolorimeter:



Tauchstab-Kolorimeter
Dubosq-Kolorimeter



Ablass-Kolorimeter

Bei der Verwendung von Kolorimetern wird die Farbstärke einer bekannten Lösung und der Probenlösung mit Hilfe eines optischen Systems miteinander verglichen. Durch Vorversuche und entsprechende Verdünnung werden die beiden Lösungen nur annähernd auf die gleiche Farbtiefe eingestellt. Der endgültige und genaue Abgleich der Farbtiefen der beiden Lösungen erfolgt dann im Kolorimeter durch eine Variation der betrachteten Schichtdicken.

Entsprechend dem BEER'SCHEN GESETZ verhalten sich die Konzentrationen der beiden Lösungen umgekehrt wie ihre Schichtdicken nach dem Abgleich auf die selbe Farbtiefe.

Ausführung von kolorimetrischen Bestimmungen:

Entsprechend einer geeigneten Arbeitsvorschrift wird aus der unbekanntem Probenlösung und aus einer Lösung mit genau bekanntem Gehalt an zu bestimmender Substanz, je eine gefärbte Messlösung hergestellt. Durch Vorversuche mit einer groben Verdünnungsreihe versucht man dabei die oben angegebenen Kriterien hinsichtlich Farbtiefe und gleicher Konzentration einzuhalten. (Je besser das gelingt, um so höher wird die bei der Analyse erreichte Genauigkeit!)

Man füllt dann die beiden Lösungen in je eine der beiden Küvetten und stellt bei einer Lösung eine beliebige Schichtdicke zwischen 20 und 40 mm ein. Die Schichtdicke der anderen Lösung wird nun so verändert, dass die im Okular betrachteten Kreishälften genau die gleiche Farbtiefe aufweisen, d.h. die Trennlinie zwischen den beiden Hälften fast verschwindet.

Dieses Einstellen einer beliebigen Schichthöhe bei der einen Lösung und das Angleichen der anderen wird noch mindestens 3 – 5 mal wiederholt und die abgelesene Schichtdicke in Form einer kleinen Tabelle jeweils notiert.

Um Unsymmetrien im Gerät auszugleichen, werden nun die Seiten getauscht, das heißt, die Lösung aus der linken Küvette kommt in die rechte Küvette und umgekehrt. Anschließend führt man nochmals 3 – 5 Messungen aus.

Zur **Auswertung** wird die unbekannte Konzentration **aus jeder Einzelmessung getrennt** mit Hilfe des Beer'schen Gesetzes berechnet:

$$c_{\text{Probe}} = \frac{s_{\text{Vergl.}} \cdot c_{\text{Vergl.}}}{s_{\text{Probe}}}$$

Erst anschließend wird nach eventueller Streichung von "Ausreisserergebnissen" der Durchschnitt und somit das Endergebnis ermittelt.

(Vorsicht vor Fehlern, die sich durch den Seitentausch ergeben!)

PHOTOMETRIE

Gemessen wird die Abnahme des Lichtstromes beim Durchgang des Lichtes durch eine in der Dicke unveränderliche Schicht der Messlösung. Unter dem Lichtstrom Φ (Einheit: 1 Lumen) versteht man die pro Zeiteinheit in die Probe eintretende Lichtenergie.

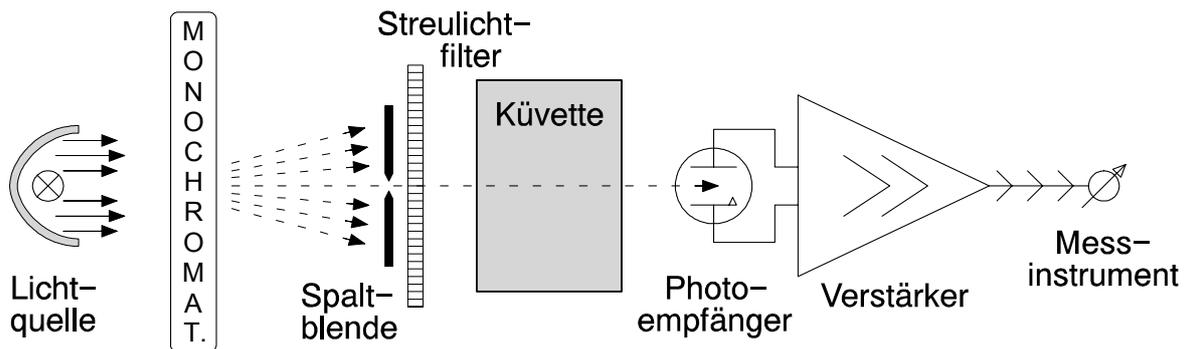
Gemessen wird immer monochromatisches Licht. Die Messung selbst erfolgt nie mit dem Auge, sondern immer mit Hilfe von photoelektrischen Messeinrichtungen.

In der klassischen Photometrie unterscheidet man zwei Arbeitsweisen und damit verbunden zwei vom Aufbau her unterschiedliche Gerätearten.

Es sind dies die sogenannten "**Einstrahlphotometer**" und die "**Zweistrahphotometer**".

Die Einstrahlphotometer dienen vor allem zur quantitativen Bestimmung von qualitativ bekannten Stoffen und sind im Allgemeinen in diesem Arbeitsbereich den meisten Zweistrahngeräten bezüglich Genauigkeit überlegen.

Aufbauprinzip von Einstrahlphotometern:



Theoretische Grundlagen

Durchdringt ein Lichtstrahl eine mit Flüssigkeit gefüllte Küvette, so wird er abgeschwächt. Der austretende Lichtstrom Φ ist also kleiner als der eintretende Lichtstrom Φ_0 .

Der auftretende Verlust ist durch vier Erscheinungen bedingt:

- Durch Reflexion des Lichtes an den Grenzflächen Luft/Glas bzw. Glas/Flüssigkeit.
- Durch Lichtabsorption im Küvettenmaterial.
- Durch Streuung an dispergierten Teilchen in der Flüssigkeit.
- Durch Absorption des Lichtes in der Probenlösung.

Die Punkte **a)** und **b)** brauchen bei der Messung nicht berücksichtigt werden, weil die dadurch bedingten Fehler durch eine Kompensationsküvette mit Blindlösung bzw. beim Nullabgleich im Verlauf der Messung eliminiert werden.

Punkt **c)** darf nicht eintreten, d.h. eine photometrische Messung darf nur mit absolut klaren (homogenen) Lösungen erfolgen! (Eine Ausnahme bilden sogenannte nephelometrische Messungen, bei denen es gerade um die Messung der Trübung in der Lösung geht.)

Punkt **d)** ergibt den gesuchten Messwert.

Nach **J. H. Lambert** besteht die folgende Gesetzmäßigkeit:

Durchdringt Licht einen homogenen Stoff, so wird in gleichen Schichtdicken, unabhängig vom Absolutwert des Lichtstromes Φ , stets der gleiche Prozentsatz des einfallenden Lichtes absorbiert.

Bezeichnet man den infinitesimalen Weg s des Lichtstrahls mit ds und die dabei eintretende Änderung des Lichtstromes mit $d\Phi$, so lässt sich diese Gesetzmäßigkeit mathematisch folgendermaßen ausdrücken:

$$d\Phi = -\Phi \cdot k' \cdot ds$$

Die Konstante k' berücksichtigt dabei sowohl die Konzentration des gelösten Stoffes wie auch die Abhängigkeit des Absorptionsvermögens von der Wellenlänge.

Durch Umformung erhält man eine einfache Differentialgleichung, die durch Integration innerhalb der Grenzen für die Schichtdicke gelöst wird:

$$\begin{aligned} -\frac{d\Phi}{\Phi} = k' \cdot ds &\quad \longrightarrow \quad -\int_{\Phi_0}^{\Phi} \frac{1}{\Phi} d\Phi = k' \cdot \int_0^s ds \quad \longrightarrow \\ &\quad \longrightarrow \quad -(\ln\Phi - \ln\Phi_0) = k' \cdot s \quad \longrightarrow \quad -\ln \frac{\Phi}{\Phi_0} = k' \cdot s \end{aligned}$$

Durch Umwandlung des natürlichen Logarithmus in den dekadischen Logarithmus erhält man dann endgültig:

$$-\lg \frac{\Phi}{\Phi_0} = k \cdot s$$

Die Größe Φ/Φ_0 bezeichnet man als **Durchlässigkeit D** oder oft auch als **Transmissionsgrad** bzw. **Transparenz T** (engl. transmission oder transmittance). Ihre Werte können zwischen 0 und 1 (also zwischen 0 – 100%) liegen.

Den negativen Logarithmus von Φ/Φ_0 nennt man die **Extinktion E** (engl. absorbance A).

Die Konstante k wird als **Extinktionskoeffizient** bezeichnet und ist bei einer gegebenen Wellenlänge nur mehr von der Substanz und deren Konzentration abhängig. Man schlüsselt sie daher auf in den sogenannten **molaren Extinktionskoeffizienten ϵ** und die Konzentration c .

Alle oben angeführten Größen (D bzw. T , E und ϵ) sind stark wellenlängenabhängig und werden jeweils nur für eine bestimmte Wellenlänge angegeben ($\Rightarrow D_\lambda, T_\lambda, E_\lambda, \epsilon_\lambda$).

Durch das Einsetzen in die obige Gleichung erhält man eine endgültige Beziehung, welche die Grundlage für die gesamte Photometrie darstellt und bekannt ist als

LAMBERT - BEER'SCHES GESETZ:

$$-\lg \frac{\Phi}{\Phi_0} = -\lg T = E = \varepsilon \cdot c \cdot s$$

An den Messgeräten sind entweder die Transparenz (meist in Prozent) oder häufiger die Extinktion ablesbar (meist aber beides).

Die Gleichung $E = \varepsilon \cdot c \cdot s$ zeigt, dass bei Verwendung der gleichen Schichtdicke und der gleichen Probensubstanz die Extinktion der Konzentration direkt proportional ist.

Bemerkungen zu den Einheiten:

E ... dimensionslos (da Logarithmus!)

c ... Mol/Liter

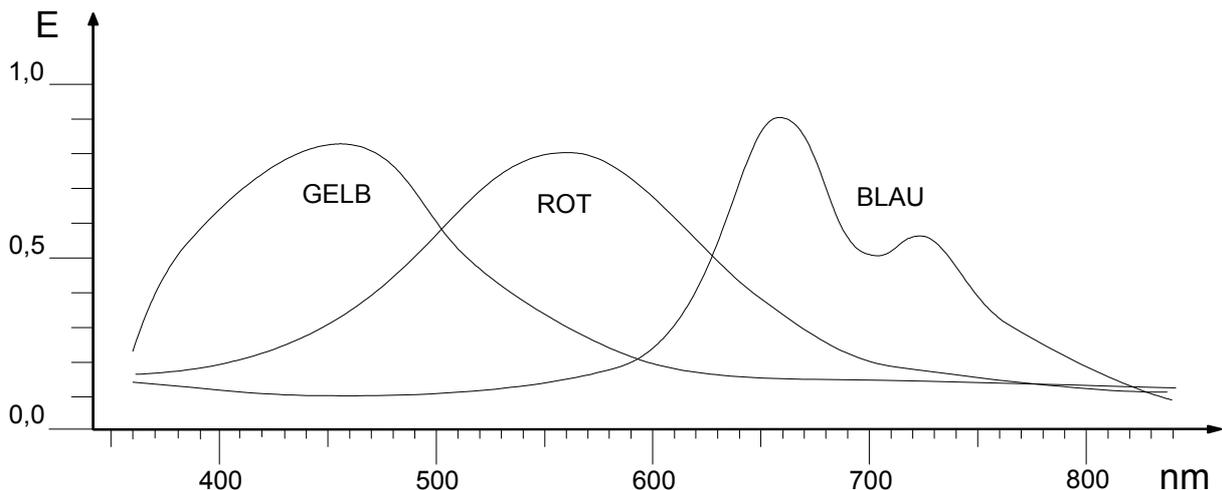
s ... wird meist in cm angegeben (sonst extra anmerken!)

ε ... Liter/Mol·cm

Trägt man E oder ε in Abhängigkeit von der Wellenlänge in einem Diagramm auf, so erhält man das Extinktionsspektrum des entsprechenden Stoffes.

(Ähnliches gilt auch für die Transparenz.)

Beispiele für drei unterschiedlich gefärbte Lösungen:



Für photometrische Messungen brauchbare Werte des molaren Extinktionskoeffizienten liegen im Bereich von $10^3 - 10^5$ L/mol·cm. Bei kleineren Werten sind die Substanzen zu farbschwach und es sind zu hohe Schichtdicken bzw. zu hohe Probenkonzentrationen nötig um genaue Messwerte zu erhalten. Höhere Werte kommen in der Praxis kaum vor.

Die **Auswahl der jeweils zur Messung herangezogenen Wellenlänge** richtet sich nach drei Hauptkriterien:

- a) Möglichst großer Extinktionskoeffizient, um eine möglichst hohe Empfindlichkeit zu erreichen.
- b) Keine Störung bzw. Überlagerung durch irgendwelche andere anwesende gefärbte Substanzen in der Lösung.
- c) Die Kurve im Spektrum sollte bei der gewählten Wellenlänge parallel zur x-Achse oder zumindest möglichst flach verlaufen. Man wählt daher Spitzen oder kleine Täler in den Extinktionskurven.

ANMERKUNG: Besonders Punkt c) ergibt oft Probleme, weil das Kurvenmaximum oder ein Zwischenminimum genau ermittelt werden muss. Je nach Photometerqualität lässt sich nämlich die gewünschte Wellenlänge sowie die Bandbreite (am Gerät die "Spaltbreite") bei dieser Wellenlänge nur sehr unterschiedlich genau einstellen.

Arbeitet man im Wellenlängenbereich einer steilen Flanke der Extinktionskurve, so führen bereits kleine Abweichungen bei der Wellenlängeneinstellung oder bei der Bandbreite zu relativ großen Messfehlern. Eventuell mühsam erstellte Kalibrierkurven werden dadurch fast wertlos; die Verwendung der Kalibrierwerte für Messungen auf einem anderen Gerät unmöglich!

Will man sicher sein, so wird man an einer Probenlösung auch die Extinktionswerte bei geringfügig verminderter und erhöhter Wellenlängeneinstellung (je nach Qualität des Gerätes 0,5 – 2 nm) ermitteln, welche dann beide etwas tiefer oder beide etwas höher liegen werden, wenn die eingestellte Wellenlänge bei der eigentlichen Messung richtig war.

Bei Zweistrahlphotometern gibt es diesbezüglich meist keine Probleme, weil sie (auf Wunsch) die Extinktionskurve aufzeichnen oder am Monitor anzeigen.

Aufbau der Messgeräte

LICHTQUELLEN

Die Auswahl der Lichtquelle richtet sich nach dem Wellenlängenbereich in dem gearbeitet werden soll. Viele Geräte enthalten auch zwei verschiedene Lampen, die sich umschalten lassen.

Die Arbeitsbereiche der einzelnen Lichtquellen überschneiden einander.

- | | |
|----------------------|---|
| 180 – 350 – 420 nm: | stabilisierte Gasentladungslampen (Xenonhochdrucklampe, Quecksilberdampfampe, Wasserstoffröhre bzw. Deuteriumlampe) |
| 330 – 980 – 2500 nm: | stabilisierte Glühlampen (evtl. Xenonhochdrucklampe) |
| 1,2 – > 20 µm: | glühende Stifte aus Eisen, Nickel oder Metalloxiden |

FILTER, MONOCHROMATOREN

Schichtfilter:

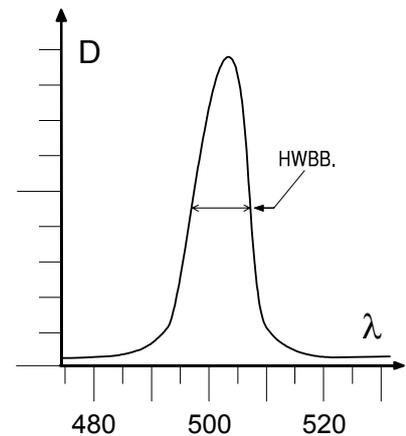
Gefärbte Folien oder Glasplatten, die ein mehr oder weniger breites Band des Spektrums durchlassen.

Diese billigste Möglichkeit besitzt aber viele Nachteile:

Es kann nur innerhalb einer gewissen Anzahl fixer Wellenlängenbereiche ausgewählt werden.

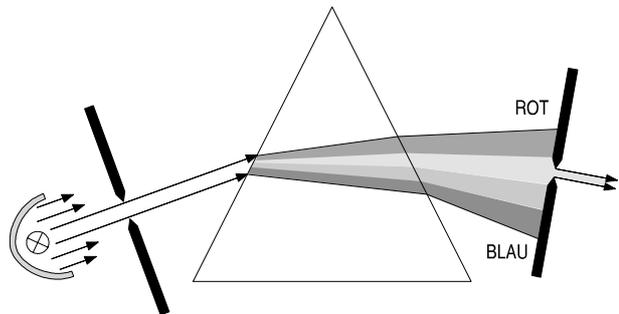
Die **Halbwertsbandbreite** (HWBB.) liegt oft über 20 nm.

Filterfolien neigen mit der Zeit zum Ausbleichen.



Prismen:

Sie spalten durch Dispersion das weiße Licht in ein kontinuierliches Spektrum auf. Aus dem entstehenden Spektralband wird die gewünschte Wellenlänge durch eine mehr oder weniger schmale Spaltblende "herausgeschnitten" und der Messung zugeführt. Durch geschickte Prismen-Spiegel-Kombinationen sind heute Bandbreiten von unter 2 nm erreichbar.



Hauptnachteile der Prismen sind der hohe Preis und die logische Tatsache, dass das Prismenmaterial natürlich für die gewünschten Wellenlängen durchlässig sein muss.

(Im UV-Bereich ist dazu Quarz, im IR-Bereich Kochsalz nötig!)

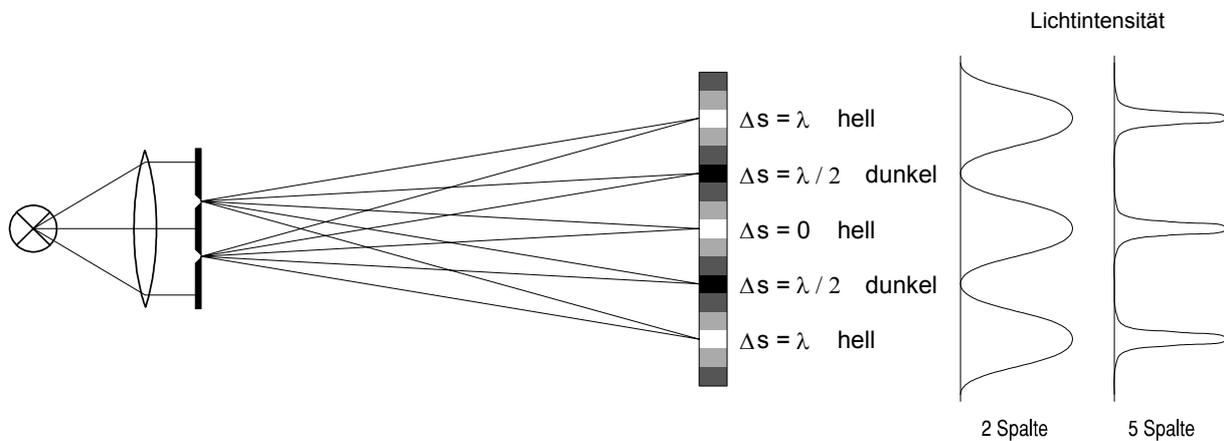
Ein weiterer Nachteil bei Prismenspektren liegt darin, dass sie nicht linear unterteilt sind. Die Spektrenbreite pro nm nimmt mit steigender Wellenlänge stark ab. Dadurch sind an den Messgeräten die Wellenlängenskalen meist ebenfalls nicht linear unterteilt.

Spaltgitter, Reflexionsgitter:

Durchdringt Licht eine Platte mit einer Anzahl sehr feiner Spalte, so wird nach **Huygens** jeder einzelne Spalt selbst zu einer strichförmigen Lichtquelle, von der das Licht kreisförmig in alle Richtungen abstrahlt. Da das Licht ursprünglich von einer Lichtquelle stammt, sind die von den Spalten abgestrahlten Lichtstrahlen untereinander kohärent, d.h. zur Interferenz befähigt.

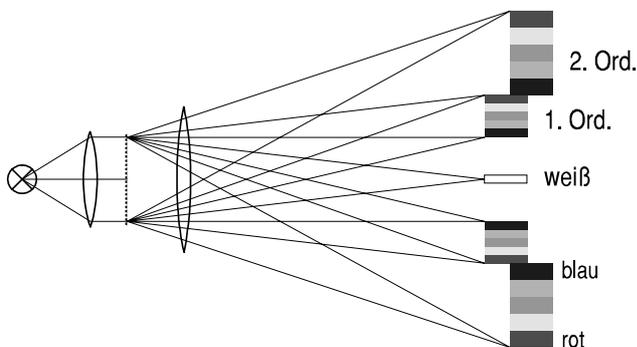
Treffen die Strahlen hinter dem Gitter um einen gewissen Winkel links oder rechts von der ursprünglichen Lichtachse abgelenkt (z.B. auf einem Schirm) aufeinander, so haben die Wellenzüge der einzelnen Spalte eine unterschiedliche Strecke zurückgelegt. Sie sind daher in ihrer Schwingungsphase zueinander verschoben. Beträgt dieser Wegunterschied eine halbe Wellenlänge oder auch ein ungeradzahliges Vielfaches davon, so kommt es durch die Phasenverschiebung von 180° bei der Addition der Wellenzüge zur Auslöschung des Lichtes dieser Wellenlänge. Betragen die Wegunterschiede ganzzahlige Vielfache der Wellenlänge, so kommt es auf dem Schirm zur Verdopplung der Intensität.

Erzeugt die Lichtquelle monochromatisches Licht, so sieht man beim Vorhandensein nur weniger Spalte eine vom Zentrum ausgehende kontinuierliche abwechselnde Intensitätsänderung (hell - dunkel - hell - dunkel - ...). Je mehr Spalte das Gitter besitzt, desto schmaler werden die Maxima zusammengezogen und umso breiter werden die dazwischen liegenden Intensitätsminima.



Bei guten optischen Gittern mit bis zu einigen tausend Linien pro Millimeter, erhält man am Schirm nur mehr sehr scharfe helle Linien mit dazwischen liegenden breiten dunklen Zonen.

Der Linienabstand von der Mitte und zueinander hängt von der Wellenlänge ab. Je kleiner diese ist, desto geringer muss der Abweichungswinkel von der Mittelachse sein, um eine Wellenlänge Wegdifferenz zu erhalten. Bei Licht mit kürzerer Wellenlänge liegen die hellen und dunklen Zonen daher näher bei der Mitte und näher beisammen.



Sendet die Lichtquelle weißes, kontinuierliches Licht aus, so kommen die Maxima der einzelnen Wellenlängen natürlich nebeneinander zu liegen, d.h. man bekommt am Schirm von innen nach außen eine Serie von Farbspektren.

Das innerste links und rechts vom Zentrum liegende Spektrum entspricht dem Wegunterschied von einer Wellenlänge, das nächstfolgende dem von zwei Wellenlängen usw. Man nennt sie dem

entsprechend "Spektren erster Ordnung, zweiter Ordnung, usw.". Bei Spektren höherer Ordnung kommt es meist bereits zu Überlappungen und sie sind für die Praxis unbrauchbar. (Bei Gittern mit sehr hoher Liniendichte sind sie gar nicht vorhanden.)

Aus dem durch das Gitter erzeugten Spektrum erster Ordnung wird wie beim Prisma der jeweils gewünschte Wellenlängenbereich mit Hilfe einer Spaltblende "herausgeschnitten". Ein im Strahlengang anschließendes Streulichtfilter (grobes Bandfilter) beseitigt die Lichtanteile, die von überlappenden Spektren höherer Ordnung stammen.

Hauptnachteil der Gitter ist der relativ hohe Preis für Gitter hoher Qualität. (Hohe Strichanzahl pro cm bei hoher Gleichmäßigkeit.)

Die Gitter besitzen allerdings sehr viele **Vorteile**:

Durch Steigerung der Gitterqualität ist ohne zusätzliche Aufwendungen eine Steigerung der Spektrenauflösung möglich. Man erreicht heute bereits Bandbreiten von einigem Zehntel eines Nanometers. (Strichzahl weit über 1000 Linien/mm.)

Verwendet man ein sog. **Reflexionsgitter** (die "Spalte" bestehen aus spiegelnden feinen Strichen), so wird man von der Durchlässigkeit des Materials in Bezug auf die Wellenlänge unabhängig. Gibt man so einem Gitter die Form eines Hohlspiegels, so kann man auch auf die Verwendung von Linsen verzichten. (Besonders wichtig sind solche Gitter in der IR-Spektroskopie, bei der man heute nur mehr mit Spiegeloptiken arbeitet, weil die Linsen aus Kochsalz bestehen müssten.)

PHOTOEMP FÄ N G E R

Sie wandeln das auf sie auftreffende Licht in ein dem Lichtstrom proportionales elektrisches Signal um. Je nach Wellenlängenbereich und benötigter Empfindlichkeit verwendet man verschiedene Arten. Allen Photoempfängern ist leider gemeinsam, dass ihre Empfindlichkeit nicht bei jeder Wellenlänge gleich hoch ist. Üblich sind heute:

Photowiderstände:

Diese ändern ihren elektrischen Widerstand in Abhängigkeit von der Beleuchtungsstärke. (z.B. PbS-Zelle für den nahen IR-Bereich ab ca. 600 nm.)

Photodioden:

Passiv geschaltet mit angelegter Spannung ändern sie ihren Widerstand in Abhängigkeit von der Beleuchtungsstärke. Aktiv geschaltet als Photoelement, geben sie eine der Beleuchtungsstärke proportionale Spannung ab.

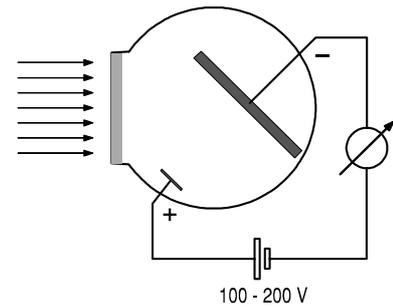
Photodiodenarray:

Dieses besteht aus einer großen Anzahl aneinandergereihter Photodioden (Diodenzeile), wobei jede für einen kleinen Wellenlängenbereich "zuständig" ist. Aus dem Spektrum, welches der Monochromator nach dem Durchgang des Lichtes durch die Probe erzeugt, wird nicht ein schmaler Wellenlängenbereich mit einer Blende herausgeschnitten, sondern das ganze Spektrum auf die Diodenzeile projiziert. Damit ist es möglich die Intensitätsverteilung über den gesamten Spektralbereich fast schlagartig zu registrieren. Das Ergebnis wird dann meist elektronisch gespeichert, mit einem Rechner bearbeitet und auf einem Bildschirm ausgegeben.

Nachteil: Auch bei einer sehr großen Anzahl an Photodioden in der Zeile ist jede für einen relativ großen Wellenlängenbereich zuständig. Ohne Überarbeitung durch den Rechner ergibt sich praktisch ein Säulendiagramm. Mit der laufenden Miniaturisierung in der Halbleitertechnik wird dieser Nachteil aber immer geringer. Heute sind bis über 4000 Dioden in einer Zeile möglich! (Photochip bei Videokameras!).

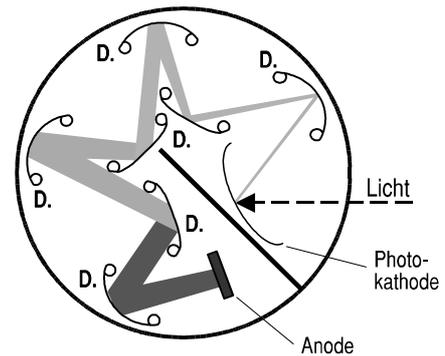
Photozellen:

In einer evakuierten Glasröhre bildet eine mit Cäsium bedampfte Oberfläche die Kathode, ein Metallgitter (oder oft auch nur ein Draht) die Anode. Auf die Cäsiumschicht auftreffendes Licht setzt der Beleuchtungsstärke entsprechend Elektronen frei, die bei angelegter Spannung durch das Vakuum zum Gitter fließen. Die Stromstärke ist daher dem auftreffenden Lichtstrom proportional.



Photomultiplier: (Sekundärelektronenvervielfacher)

Diese sind in der ersten Stufe wie Photozellen aufgebaut. Die aus der Cäsiumschicht freigesetzten Elektronen werden durch ein elektrisches Feld von ca. 100 V beschleunigt und treffen auf die Oberfläche der ersten einer größeren Anzahl von sogenannten Dynoden (D.) auf, aus der sie mehrere Sekundärelektronen ausschlagen. Diese werden durch die Spannung von 100 Volt, die zwischen den einzelnen Dynodenstufen angelegt ist weiter beschleunigt usw. Aus jeder Dynode wird dabei eine mehrfache Anzahl der auftreffenden Elektronen an Sekundärelektronen ausgeschlagen. Durch einen entsprechenden inneren Aufbau der Photozelle mit zehn und mehr Dynodenstufen erreicht man eine Vervielfachung des durch das Licht ausgelösten Elektronenstromes um mehrere Zehnerpotenzen und damit eine wesentliche Steigerung der Lichtempfindlichkeit.



Anmerkung: Vorsicht! Manche Photoempfänger sind so empfindlich, dass sie bereits durch normales Tageslicht zerstört werden. Ausbau daher nur in abgedunkelten Räumen!

KÜVETTEN

Unter Küvetten versteht man die Probengefäße bei kolorimetrischen und photometrischen Messungen. Sie besitzen meist zwei planparallele Fenster. Der Abstand dieser Fenster und damit die Schichtdicke ist im Allgemeinen fix und auf 1/100 mm genau. Die handelsüblichen Schichtdicken liegen zwischen 1 mm und 100 mm (Stufung 1 - 2 - (4) - 5 - 10 - ...).

Das Küvettenmaterial richtet sich nach dem gewünschten Spektralbereich:

Glas:	ab ca. 350 nm bis > 1000 nm
optisches Spezialglas (OS):	ab ca. 320 nm bis > 1000 nm
Quarzglas (QU):	ab ca. 180 nm bis > 1000 nm

Anmerkung: Das Material sowie die genaue Schichtdicke sind im Allgemeinen am oberen Rand der Küvette eingraviert. Für Messungen mit sehr langwelligem Licht (Infrarotspektroskopie) verwendet man Küvetten, die aus Platten aus NaCl, NaBr, CsI oder AgCl selbst zusammengesetzt werden.

ACHTUNG: Die Küvetten müssen zur Messung sowohl innen als auch außen absolut sauber sein! Auch die geringste Verunreinigung (Fingerabdruck!) führt zur Lichtstreuung und bedingt große Messfehler! Angegriffen werden Küvetten immer nur an den seitlichen, matten Wänden.

Eine **Reinigung** der Fenster darf niemals scheuernd erfolgen, weil auch durch feinste Kratzer die Küvette unbrauchbar wird (Lichtstreuung). Moderne, nicht gekittete Küvetten halten eine kürzere Behandlung mit aggressiven Säuren (Salpetersäure, Chromschwefelsäure usw.) oder Lösungsmitteln ohne Schaden aus. Alkalien führen leicht zu Verätzungen. Zum Abwischen der Außenfenster verwendet man weiches Gewebe oder Papiervlies. Haften an der Innenseite der Fenster kleine Pigmentteilchen die sich nicht weglösen lassen, so kann man diese ausnahmsweise und sehr vorsichtig mit einem Wattestäbchen oder einem zurechtgebogenen Pfeifenkätzchen wegwischen.

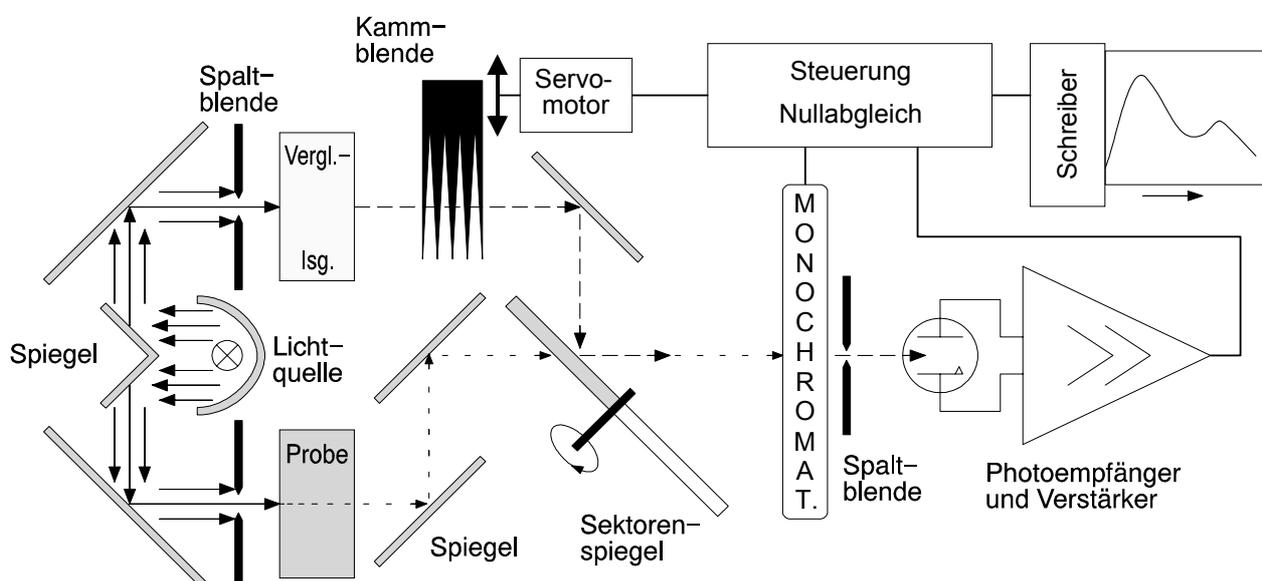
ZWEISTRALHGERÄTE

Sie werden vor allem dann verwendet, wenn man die Transparenz oder die Extinktion einer Probe bei vielen verschiedenen Wellenlängen oder in einem ganzen Wellenlängenbereich benötigt.

Es sind fast immer sogenannte schreibende Geräte, welche die Extinktion oder die Transparenz in einem vorher gewählten Wellenlängenbereich kontinuierlich messen und in Abhängigkeit von der Wellenlänge aufzeichnen \Rightarrow **Absorptionsspektrum**.

Filter und evtl. die Lichtquellen werden vom Gerät selbst verändert. Neben der Probenlösung befindet sich auch eine Küvette mit Vergleichslösung im Gerät.

Das von der Lichtquelle kommende Licht wird in zwei Strahlen aufgeteilt, wobei einer die Probe und der andere die Vergleichslösung durchdringt. Durch einen rotierenden Sektorenspiegel und ein Spiegelsystem erreicht man, dass mehrmals pro Sekunde abwechselnd der Probenstrahl bzw. der Referenzstrahl auf den Photoempfänger fallen. Sind die beiden nicht völlig gleich, so wird die dadurch vom Photoempfänger erzeugte Gleichspannung durch eine Wechselspannung überlagert. Die Wechselspannungskomponente wird dann verstärkt.

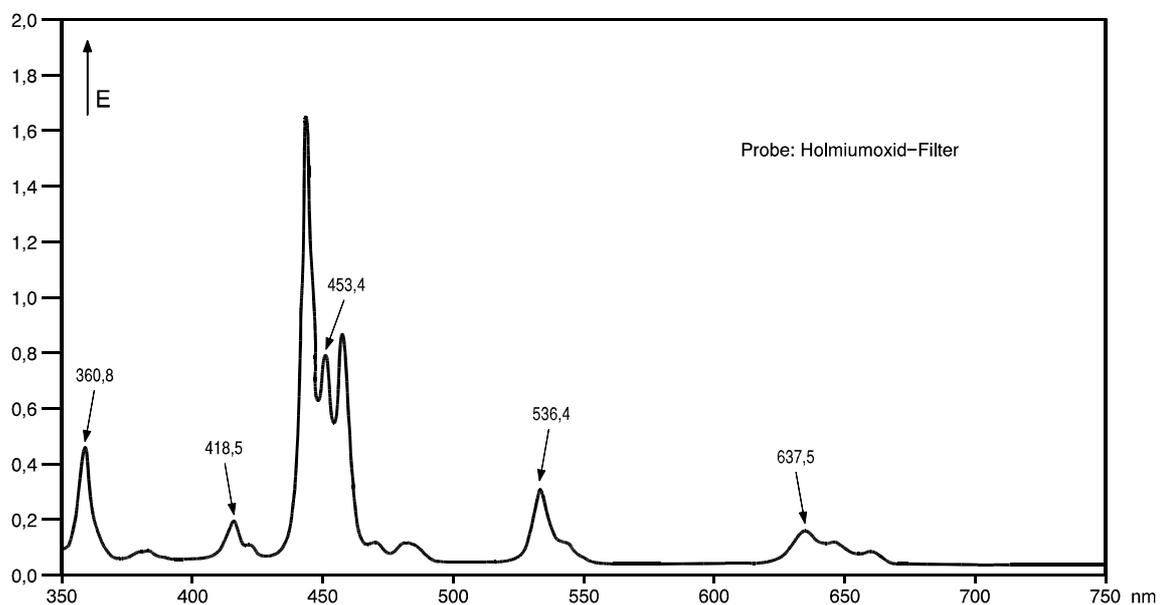


Die dem Verstärker folgende Nullabgleichschaltung schiebt mittels eines Servomotors eine Kamtblende in den Referenzstrahlengang, bis dieser so weit abgeschwächt ist wie der Probenstrahl durch die Probe, d.h. die Wechselspannungskomponente des Photoempfängers null ist. Die Stellung der Kamtblende entspricht somit der Transparenz bzw. der Extinktion der Probe. Die Stellung der Kamtblende wird auf die y-Achse eines Kurvenschreibers übertragen, dessen Papier der jeweiligen Wellenlänge entsprechend unterteilt ist und weiterbewegt wird.

Vorteilhaft bei Zweistrahlgeräten ist die Tatsache, dass die Abhängigkeit der Empfindlichkeit des Photoempfängers von der Wellenlänge keine Rolle spielt und auch Helligkeitsschwankungen der Lichtquelle sich nicht auswirken, weil ja nur zwei Lichtströme miteinander verglichen aber nicht absolut gemessen werden. (Bei Einstrahlgeräten ist ein sehr hoher Aufwand nötig um die Versorgungsspannung der Lichtquelle und damit den abgegebenen Lichtstrom absolut konstant zu halten. Jede Schwankung würde ja voll mitgemessen werden!)

Manche moderne (preisgünstige) Zweistrahlgeräte ersetzen die teuren mechanischen Bauteile (wie Sektorenspiegel, Servomotor u.s.w.) durch Rechnerleistung. Sie sind wie zwei parallele Einstrahlgeräte aber mit einer Lichtquelle und einem Monochromator aufgebaut, besitzen aber zwei Photoempfänger. Bei einem doppelten Kalibriervorgang (beide Strahlengänge frei bzw. beide zu) den man von Zeit zu Zeit durchführen muss, wird der gesamte Wellenlängenbereich durchgescannt und in 1/10-Nanometerschritten die jeweilige Abweichung der beiden Photodiodensignale gemessen und gespeichert. ("Speicherung der Basislinie") Beim eigentlichen Messvorgang (mit Messlösung und Blindlösung) wird aus der Differenz der elektrischen Signale der Photoempfänger und der Werte der Basislinie die Transparenz bzw. Extinktion der Probe errechnet und angegeben.

Anmerkung: Verwendet man Zweistrahlgeräte zur Aufnahme von Extinktionskurven, so sollte man zu Beginn der Messung prüfen, ob der ausgewählte Wellenlängenbereich mit dem Wellenlängenbereich am Papier übereinstimmt. Eine genaue Eichung der Wellenlänge ist möglich, indem man das Spektrum eines mit Holmiumoxid gefärbten Quarzglasplättchens aufnimmt. Dieses besitzt eine größere Anzahl sehr scharfer Peaks, deren Lage auf 1/10 nm genau bekannt ist.



Für quantitative Messungen lassen sich manche Geräte auf eine Wellenlänge einstellen. Ist das nicht der Fall, so wählt man einen passenden, möglichst engen Wellenlängenbereich und die langsamste Scangeschwindigkeit (Wellenlängenänderung / Zeiteinheit), um die höchste photometrische Genauigkeit zu erzielen.

Eine genaue Kenntnis der optimalen Wellenlänge ist bei schreibenden Geräten nicht nötig, da man sich bei der Auswertung den günstigsten Punkt auf der Kurve aussuchen kann.

Zweistrahlgeräte erlauben meist auch die photometrische Verfolgung von Reaktionen in Abhängigkeit von der Zeit. Man stellt sie dazu auf eine fixe Wellenlänge ein. Der angeschlossene Schreiber wird auf einen sinnvollen Papiervorschub (cm/Minute ... cm/Stunde) eingestellt, und registriert dann die Änderung der Extinktion mit der Zeit.

Allgemeine Arbeitsweise bei photometrischen Bestimmungen

1. Vorbereitung des Messgerätes und Messvorgang bei Einstrahlphotometern:

- a) Beim Einschalten des Gerätes auf die richtige Wahl der Lichtquelle achten und die Anwärmezeit (Verstärker) berücksichtigen. Viele Lampen besitzen nur eine sehr beschränkte Lebensdauer (z.B. Deuteriumlampe) und man wird sie daher nicht unnötig leuchten lassen.
- b) Bei Zeigerinstrumenten Kontrolle bzw. Einstellung des mechanischen Nullpunktes (das erfolgt bei kurzgeschlossenem Messinstrument).
- c) Eventuell Kontrolle bzw. Abgleich des elektrischen Nullpunktes (dabei müssen alle Blenden geschlossen oder der Lichtstrahl sonstwie unterbrochen sein!)
- d) Die gewünschte Wellenlänge einstellen, das vorgesehene Streulichtfilter in den Strahlengang bringen (erfolgt bei vielen Geräten automatisch mit der Wellenlängeneinstellung!) und den für die Wellenlänge vorgeschriebenen Photoempfänger einschwenken.
- e) Küvette mit Vergleichslösung (Blindprobe, evtl. Wasser oder Lösungsmittel) in den Strahlengang bringen und durch vorsichtiges Öffnen der Spaltblende auf Extinktion = 0 oder auf 100% Transparenz abgleichen. (Bei vielen Geräten erfolgt dieser Abgleich automatisch durch einen Tastendruck.)
- f) Küvette mit der Probenlösung in den Strahlengang bringen und den Messwert ablesen.

Anmerkungen:

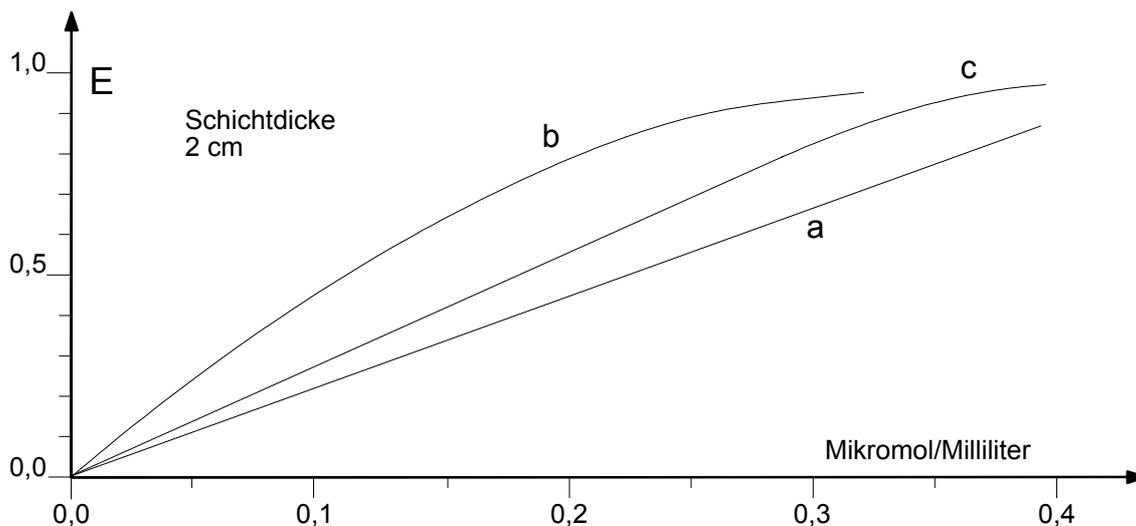
Will man die Extinktion einer Probe bei mehreren verschiedenen Wellenlängen messen, so muss nach jeder Änderung der Wellenlängeneinstellung nicht nur die Einstellung für das Streulichtfilter und evtl. für den Photoempfänger kontrolliert werden, sondern auch die Einstellung nach Punkt e) wiederholt werden. Ein einfaches Ändern der Wellenlänge (selbst um nur wenige Nanometer) genügt nicht, weil die meisten Photoempfänger eine sehr starke Abhängigkeit ihrer Empfindlichkeit von der Wellenlänge besitzen.

Je nach Lichtquelle und Photoempfänger besitzen alle Photometer einen Extinktionsbereich, in welchem sie die genauesten Messwerte liefern. Dieser liegt bei den meisten Geräten zwischen $E = 0,1 \dots 1,0$ (besser noch zwischen $E = 0,2 \dots 0,8$). Werte darunter und besonders darüber sollten nicht zur Ermittlung des Endergebnisses verwendet werden.

Man benützt sie vielmehr um eine günstigere Auswahl bezüglich Probenverdünnung bzw. der Schichtdicke zu überlegen. Extinktionswerte über 1,0 befinden sich bei vielen Geräten auch noch in einem sehr gedrängten Skalenbereich und sind deshalb auch nur ungenau ablesbar.

2. Erstellung einer Kalibrierkurve:

Man bereitet eine Anzahl Messproben mit unterschiedlichem aber genau bekanntem Gehalt nach der jeweiligen Analysenvorschrift und misst deren Extinktion. Die Messwerte trägt man in ein Diagramm Extinktion gegen Konzentration ein:



Gemessen wird üblicherweise gegen eine entsprechende Blindlösung, selten gegen Wasser, nie gegen Luft (Abgleich $E = 0,000$ bzw. 100%), d.h. die Kurve muss durch den 0/0-Punkt gehen. Als Standardschichtdicke wählt man, wenn in der Vorschrift nicht schon anderes angegeben wird, 1 cm. (Obwohl 2 cm oder 5 cm fast immer günstiger wären, weil man dann verdünntere Probenlösungen einsetzen kann und evtl. Fehler durch Assoziation unterdrückt!) In jedem Fall sollte die Schichtdicke im Diagramm angegeben werden.

Wird das Lambert-Beer'sche Gesetz voll erfüllt (**Kurve a**), erhält man eine Gerade als Kalibrierkurve. Es sind dann nur einige wenige Kalibrierproben nötig. Die Auswertung der späteren Messergebnisse kann mit Hilfe der Geradengleichung bzw. mittels linearer Regression am Rechner erfolgen, wenn eine größere Anzahl Parallelproben gemessen wurde. Noch einfacher ist die Berechnung und Angabe des molaren Extinktionskoeffizienten für spätere Probenauswertungen.

Wird das Lambert-Beer'sche Gesetz nicht erfüllt (**Kurve b**), so erhält man als Kalibrierkurve eine zur x-Achse gekrümmte Kurve. Diese muss durch entsprechend viele Proben innerhalb des vorgesehenen Konzentrationsbereiches genau festgelegt werden.

Die Auswertung nach dem Messen der Proben erfolgt dann meistens graphisch, d.h. man ermittelt im Diagramm aus dem gemessenen Extinktionswert die Konzentration der Probensubstanz in der Messlösung. Diese wird dann unter Berücksichtigung der Verdünnung beim Bereiten der Messlösung, auf die Ausgangsprobe zurückgerechnet. Wegen der nichtlinearen Verhältnisse ist für jede Schichtstärke eine eigene Kalibrierkurve zu erarbeiten.

Wird die Probe mit einer anderen Schichtstärke gemessen, so muss vor der graphischen Auswertung auf die Schichtstärke der Kalibrierkurve umgerechnet werden, wobei natürlich gilt:

$$E_1/s_1 = E_2/s_2 = \text{konst.}$$

In der Praxis ist diese Möglichkeit allerdings nur selten sinnvoll, weil man dabei meist den Arbeitsbereich der Kalibrierkurve verlässt (welcher bei deren Erstellung hoffentlich gut überlegt wurde), oder in den relativ ungenauen Bereich des Photometers mit niederen Extinktionswerten gelangt. Es ist wesentlich günstiger die Probenmenge in der Messlösung an die Schichtdicke der Kalibrierkurve anzupassen!

Häufig wird das Lambert-Beer'sche Gesetz nur bis zu einer gewissen Höchstkonzentration erfüllt, welche meist in der Analysenvorschrift angegeben wird. Darüber kommt es z.B. durch Assoziation der Teilchen zu einem Abweichen der Kurve in Richtung x-Achse. Meist arbeitet man dann nur im geradlinigen Teil der Kurve (**Kurve c**) und hilft sich bei zu geringer Extinktion lieber mit einer höheren Schichtstärke. (Theoretisch ist auch ein punktweises Ermitteln des oberen gekrümmten Teiles der Kalibrierkurve möglich.)

Anmerkung: Die auf der x-Achse angegebene Einheit ist natürlich prinzipiell frei wählbar. Wenn nicht besondere Umstände dagegen sprechen, sollte die Konzentrationsangabe bei der Kalibrierkurve aber immer in $\mu\text{mol/mL}$ oder $\mu\text{mol/L}$ erfolgen (also nicht in g/\dots oder mg/\dots aber auch nicht in $\dots/100\text{mL}$ oder $\dots/50\text{mL}$). Nur so wird man von der Art der Eichsubstanz aber auch von der Größe der beim Kalibriervorgang verwendeten Messkolben unabhängig! (**Ausnahme:** die Kalibrierkurve wird immer für die gleiche Probensubstanz und immer mit den gleichen Messkolben benützt. Vergleichbar mit empirischen Maßlösungen!) Keinesfalls sollte man auf die Angabe der Schichtdicke vergessen!

3. Bestimmung der unbekannt Probe:

Ein aliquoter Teil der Probenlösung wird der jeweiligen Vorschrift entsprechend verarbeitet und zum Schluss in einem kleinen Messkolben (meist 25 oder 50 oder 100 mL) auf das schon zu Beginn der Arbeit festgelegte Volumen aufgefüllt. Sinnvoller Weise setzt man neben den drei bis fünf Parallelversuchen mit unterschiedlichen Probenmengen nach der selben Vorschrift auch die zur Messung nötige Blindlösung an. Die Lösungen werden dann wie oben unter Punkt 1. angegeben gemessen.

Die **Auswertung** erfolgt:

- a) Entweder rechnerisch mit Hilfe der linearen Regression und der Geradengleichung, oder wenn der molare Extinktionskoeffizient ermittelt wurde, durch Einsetzen in das Lambert-Beer'sche Gesetz. (Voraussetzung ist natürlich die strenge Einhaltung des Lambert-Beer'schen Gesetzes im gewählten Konzentrationsbereich, was aus der Kalibrierkurve zu ersehen ist.)
- b) Indem man aus dem Diagramm mittels der Extinktion die Konzentration der Messlösung ermittelt und unter Berücksichtigung der Kolbengröße, der eingesetzten Probenmenge und eventueller Verdünnungsschritte auf die Probenkonzentration zurückrechnet.

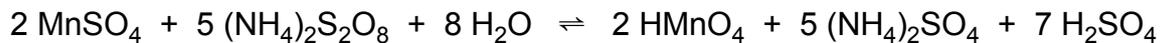
Die Auswertung erfolgt für jede gemessene Probe getrennt. Proben mit Extinktionswerten unter 0,2 oder über 1,0 werden nicht berücksichtigt (evtl. bei anderer Schichtdicke messen!).

Bestimmung einzelner Proben

BESTIMMUNG VON MANGAN

GRUNDLAGEN:

Das in der möglichst chloridfreien Lösung enthaltene Mangan(II)-Ion wird mittels Ammoniumperoxodisulfat zu Übermangansäure oxidiert. Eine Zugabe von Silbernitrat dient zum Ausfällen der restlichen Halogenspuren und als Oxidationskatalysator. Durch Zugabe von Phosphorsäure verhindert man Schwierigkeiten durch eventuell anwesendes Eisen (Farbe, Oxidation von doch vorhandenem Chlorid zu Chlorgas).



AUSFÜHRUNG:

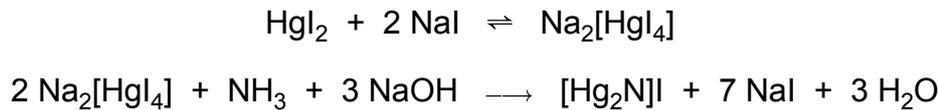
Die Probe mit bis zu 0,2 mg Mn wird in einem 50-mL-Messkolben mit etwas verd. Schwefelsäure und 0,8 mL Phosphorsäure (85%ig) versetzt und nach Zugabe von ca. 1 mL ca. 0,1-molarer Silbernitratlösung auf etwa 40 mL verdünnt. Man gibt nun ca. 1 g festes Ammoniumperoxodisulfat zu und erwärmt dann ca. 20 – 30 Minuten im heißen Wasserbad bis zur vollständigen Ausbildung der Farbe. Nach dem Abkühlen füllt man bis zur Marke auf und misst bei 545,8 nm oder bei 526,0 nm gegen eine gleichartig hergestellte Blindlösung.

Die Eichkurve kann man durch Messung unterschiedlich verdünnter Permanganattiterlösungen erstellen. (1 mL 0,02-molarer Permanganatlösung entspricht 1,099 mg Mangan.) Der Zusatz der oben angegebenen Chemikalien ist aber notwendig!

BESTIMMUNG VON AMMONIUM

GRUNDLAGEN:

Nesslers Reagenz, eine stark alkalische Lösung von Natriumiodomercurat(II), gibt bereits mit Spuren von Ammoniak eine gelb-braune Färbung durch die Bildung eines substituierten Ammoniumsalzes. Mit größeren Ammoniakmengen oder auch nach längerem Stehen bildet sich ein gelb-brauner Niederschlag.



Störend wirken größere Mengen an Härtebildnern und Eisenionen, die durch einen Zusatz von Seignettesalz beseitigt werden. Sulfide werden durch Zusatz von Zinksulfatlösung entfernt.

AUSFÜHRUNG:

Die Probe mit bis zu 50 µg NH₃ wird in einem 50-mL-Messkolben auf ca. 45 mL verdünnt, mit 1 mL Seignettesalzlösung und anschließend mit 1 mL Nesslers Reagenz versetzt und auf 50 mL aufgefüllt.

Die entstehende Gelbfärbung wird gegen eine gleichartig hergestellte Blindprobe bei 425 nm photometriert.

Sowohl die Messlösung wie auch die Blindprobe müssen immer frisch hergestellt werden, weil sich die Farbe durch langsames Ausscheiden von [Hg₂N]I·H₂O mit der Zeit ändert!

REAGENZIEN:

Seignettesalzlösung:

5 g Kaliumnatriumtartrat werden in 95 mL Wasser gelöst und mit 5 mL Nesslers Reagenz versetzt. Ein sich evtl. bildender Niederschlag wird absetzen gelassen; die Lösung abgossen und im Dunkeln aufbewahrt.

Nesslers Reagenz:

6 g HgCl₂ werden in 50 mL Wasser gelöst und mit 7,4 g KI, gelöst in 50 mL Wasser, versetzt. Es fällt rotes HgI₂ aus. Dieses wird absetzen gelassen und nach dem Abdekantieren der obenstehenden Lösung dreimal mit Wasser gewaschen, bis der Niederschlag chloridfrei ist. Nach Zugabe von 5,0 g KI und etwas Wasser tritt Lösung unter Komplexbildung ein. Nun werden 20 g festes NaOH, gelöst in wenig Wasser, zugesetzt und die Lösung auf 100 mL aufgefüllt. Nicht gelöste Anteile lässt man absetzen und dekantiert. Die klare Lösung wird in einer sauberen Flasche im Dunkeln aufbewahrt.

ACHTUNG: Die naheliegende Idee, statt dem frisch gefällten HgI₂, vorhandenes festes HgI₂ zu verwenden, scheitert meistens wegen dessen stark verminderter Löslichkeit. (Nesslers Reagenz gibt es auch fertig zu kaufen, was sehr zu empfehlen ist!)

BESTIMMUNG VON EISEN

Die älteste kolorimetrische Eisenbestimmung beruhte auf der Bildung des rot gefärbten Eisen(III)-rhodanids. Die Probe wurde dazu mit Salpetersäure oder anderen Oxidationsmitteln heiß oxidiert und anschließend mit Kaliumrhodanidlösung in großem Überschuss versetzt. Die photometrische Messung erfolgte dann bei 478 nm.

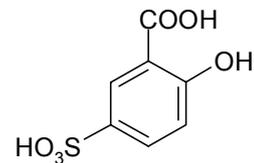
Die Methode besitzt zahlreiche Nachteile. Neben der geringen Empfindlichkeit wird vor allem die Farbstärke von Zn^{2+} -, Al^{3+} - und anderen Metallionen beeinflusst, wenn die Lösung stark sauer an HCl ist. (In HNO_3 -Lösung haben sie kaum Einfluss!) Phosphat, Oxalat und Fluorid können durch Komplexbildung entfärben. Heute verwendet man zur Eisenbestimmung daher praktisch nur mehr organische farbbildende Reagenzien:

Eisenbestimmung mit 5-Sulfosalicylsäure

GRUNDLAGEN:

Sulfosalicylsäure bildet in mäßig saurer Lösung (pH 1–3) mit Fe(III)-Ionen rotviolette Komplexe mit einem Extinktionsmaximum bei 505 nm.

Im alkalischen Bereich bildet sie mit Fe(II)- als auch mit Fe(III)-Ionen gelbe Komplexe mit einem Extinktionsmaximum bei 424 nm.



Beide Möglichkeiten sind zur Bestimmung brauchbar. Im alkalischen Bereich ergibt sich eine ca. 5-fache Empfindlichkeit gegenüber der Bestimmung im sauren Medium. Auch eine getrennte Bestimmung der beiden Oxidationsstufen ist so möglich.

AUSFÜHRUNG IM SAUREN BEREICH:

Die Probenlösung mit bis zu 2,5 mg Eisen wird mit 0,5 mL konz. HCl und zwei Tropfen Perhydrol versetzt, auf 10 – 20 mL verdünnt und ca. 15 Minuten schwach gekocht. Nach dem Abkühlen versetzt man mit 5 mL 20%iger Sulfosalicylsäurelösung, überführt quantitativ in einen 50-mL-Messkolben, füllt auf und misst bei 505 nm gegen eine gleichartig hergestellte Blindlösung.

AUSFÜHRUNG IM ALKALISCHEN BEREICH:

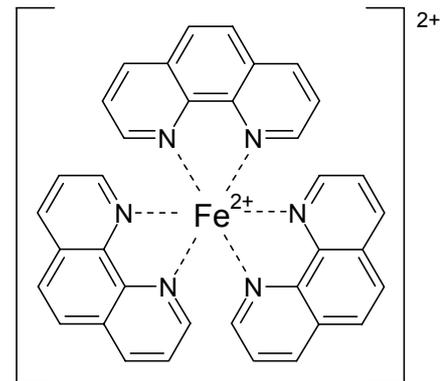
Die Probenlösung mit bis zu 0,6 mg Eisen wird mit 0,5 mL konz. HCl versetzt, auf 10 – 20 mL verdünnt und ca. 15 Minuten schwach gekocht.

Nach dem Abkühlen versetzt man mit 5 mL 20%iger Sulfosalicylsäurelösung, überführt quantitativ in einen 50-mL-Messkolben, versetzt mit 2 mL 10%iger Hydroxylaminhydrochlorid-lösung und dann tropfenweise mit konz. Ammoniak bis zum Umschlag nach Gelb.

Nach Zugabe von weiteren 10 mL konz. Ammoniak wird zur Marke aufgefüllt und gegen eine gleichartig hergestellte Blindlösung bei 424 nm gemessen.

Eisenbestimmung mit 1,10-Phenanthrolin:**GRUNDLAGEN:**

Eisen(II)-ionen bilden in saurer Lösung mit 1,10-Phenanthrolin einen kräftig rot gefärbten Komplex. Der Komplex mit Eisen(III)-ionen ist nur ganz schwach blau gefärbt. (⇒ Redoxindikator "Ferrouin")
Der Zusatz des Reduktionsmittels Hydroxylammoniumchlorid sorgt für das Vorliegen von Eisen(II).

**AUSFÜHRUNG:**

Die Probe mit bis zu 0,2 mg Eisen wird in einen 50-mL-Messkolben gebracht und mit 2 mL Ammonacetat-Eisessig-Lösung sowie mit 2 mL Hydroxylammoniumchloridlösung versetzt. Man füllt dann auf ca. 45 mL auf und mischt durch. Der pH-Wert sollte zwischen 3,5 – 5,5 (optimal bei 4,5) liegen. Anschließend setzt man 2 mL 1,10-Phenanthroliniumchloridlösung zu, füllt bis zur Marke auf und lässt zur Farbausbildung 15 Minuten im Dunkeln stehen. Gemessen wird dann bei 492 nm oder bei 508 nm gegen eine analog hergestellte Blindlösung.

REAGENZIEN:

Ammonacetat-Eisessig-Lösung:

40 g Ammonacetat plus 50 mL Eisessig werden in einem Messkolben mit Wasser auf 100 mL aufgefüllt.

Hydroxylammoniumchloridlösung:

10 g Hydroxylammoniumchlorid werden in 100 mL Wasser gelöst. (Die Lösung ist verschlossen ca. eine Woche haltbar.)

1,10-Phenanthrolinlösung:

0,5 g 1,10-Phenanthroliniumchlorid werden in 100 mL Wasser gelöst. (Die Lösung ist ca. eine Woche haltbar.)

BESTIMMUNG VON ORTHOPHOSPHAT

GRUNDLAGEN:

Das Orthophosphation bildet in stark saurer Lösung bei Anwesenheit von Molybdänsäure und Vanadinsäure einen intensiv gelb gefärbten Phosphor-Molybdän-Vanadin-Komplex.

Die Abhängigkeit der Extinktion von der Phosphatkonzentration ist bis ca. 0,45 $\mu\text{mol/mL}$ streng linear. Bei höheren Phosphatkonzentrationen kann mit einer analog zur Probenlösung hergestellten Blindlösung verdünnt werden. Di- und Polyphosphate geben die Färbung nicht!!!

Eisenmengen über 1 mg/L stören; lösliche Silikate geben ebenfalls eine (schwächere) Färbung.

AUSFÜHRUNG:

Die Probe mit bis zu 2 mg PO_4^{3-} wird in einem 50-mL-Messkolben auf ca. 30 mL verdünnt. Man versetzt dann der Reihe nach mit 1 mL konz. Schwefelsäure und mit je 5 mL Vanadatlösung bzw. Molybdatlösung, kühlt auf Raumtemperatur ab und füllt dann zur Marke auf. Zur vollständigen Ausbildung der gelben Farbe lässt man mind. 15 Minuten stehen und misst dann bei 400 nm (oder 405 nm) gegen eine entsprechend hergestellte Blindlösung.

Die Erstellung der Kalibrierkurve erfolgt mittels Einwaagen von Ammoniumdihydrogenphosphat oder von Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat (Puffersubstanz nach Sörensen) oder von Natriumammoniumhydrogenphosphat-Tetrahydrat.

ANMERKUNGEN:

Die Messung erfolgt im Bereich von 400 bis 410 nm. Die Extinktionskurve zeigt in diesem Bereich kein Maximum sondern einen leichten Anstieg. Um Fehler durch eine nicht ganz genau eingestellte Wellenlänge zu vermeiden, sollten die Lösungen zur Kalibration und der Probe in einem Arbeitsgang gemessen werden.

Ein Extinktionskurvenmaximum läge bei ca. 350 nm. Messungen in diesem Bereich sind aber nicht möglich, weil bei dieser Wellenlänge die Blindlösung (gemessen gegen Wasser) bereits Extinktionswerte von weit über 2,0 besitzt. Der Messwert ergäbe sich daher aus der Differenz von deutlich unter 1 % Durchlässigkeit und einem geringfügig noch kleineren Wert. Die meisten Photometer liefern dann keine brauchbaren Ergebnisse mehr.

Wegen der sehr hohen Lichtabsorption der Blindlösung (und damit des Phosphatreagens), sollte man auch darauf achten, alle Lösungen (Kalibrier-, Blind- und Probenmesslösungen mit den selben Reagenzlösungen und ganz genau den gleichen Zusatzmengen anzusetzen. Stimmen die Zusammensetzungen der Reagenzlösung nicht exakt überein (z.B. nicht exakt gleiche Einwaagen) so kann es wegen unterschiedlicher Eigenfarbe der Reagenzlösungen zu deutlichen Abweichungen bei den Messwerten kommen.

REAGENZIEN:

Vanadatlösung:

2,5 g Ammonvanadat werden in 500 mL siedendem Wasser gelöst. Nach dem Abkühlen setzt man 20 mL konz. Salpetersäure (d: 1,40) zu und verdünnt auf 1 Liter.

Molybdatlösung:

100 g Ammonium(hepta)molybdat $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ werden bei 50 °C in 500 mL Wasser gelöst. Nach dem Abkühlen werden 100 mL konz. Schwefelsäure zugesetzt.

Nach abermaligem Abkühlen wird auf 1 Liter verdünnt.

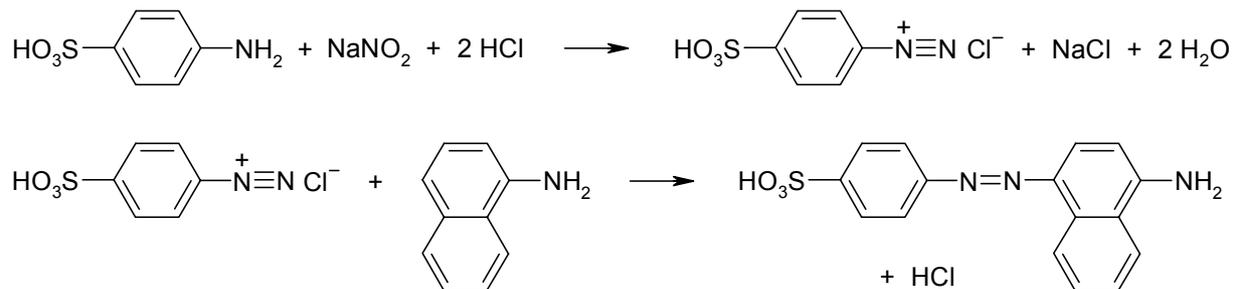
Beide Lösungen müssen filtriert werden und sind in Polyethylenflaschen aufzubewahren.

BESTIMMUNG VON NITRIT

GRUNDLAGEN:

Das in der Lösung enthaltene Nitrit reagiert in saurer Lösung mit Sulfanilsäure unter Bildung des entsprechenden Diazoniumsalzes. Dieses koppelt mit zugesetzten aromatischen Aminen zu einem intensiv rot gefärbten Azofarbstoff.

Gestört wird die Reaktion durch Fe, Sb, Ag und Hg.



AUSFÜHRUNG:

Die annähernd neutrale Probe die bis zu 25 µg Nitriten enthalten darf, wird in einem 50-mL-Messkolben auf ca. 20 mL verdünnt, mit 2 mL Sulfanilsäurelösung vermischt und 3 – 4 Minuten stehen gelassen. Danach setzt man der Reihe nach 2 mL 1-Naphthylaminlösung, 2 mL 25%ige Na-Acetatlösung und 20 mL Eisessig zu und füllt zur Marke auf.

Nach 10 Minuten misst man bei 520 nm gegen eine analog hergestellte Blindlösung.

REAGENZIEN:

Sulfanilsäurelösung:

Man verdünnt 1,7 mL konz. HCl mit ca. 99 mL Wasser und löst darin 0,6 g Sulfanilsäure.

1-Naphthylaminlösung:

0,6 g 1-Naphthylamin werden in einer Mischung aus 1 mL konz. HCl und 99 mL Wasser aufgelöst.

DURCHFÜHRUNG EINER PHOSPHATBESTIMMUNG

1. Erstellung der Kalibrationskurve:

Da wegen der hohen molaren Extinktion bei der Molybdat-Vanadat-Methode nur sehr geringe PO_4^{3-} -Konzentrationen in der Messlösung vorhanden sein dürfen, ist ein Arbeiten mit Stammlösungen, eventuell mit mehreren Verdünnungsschritten nötig.

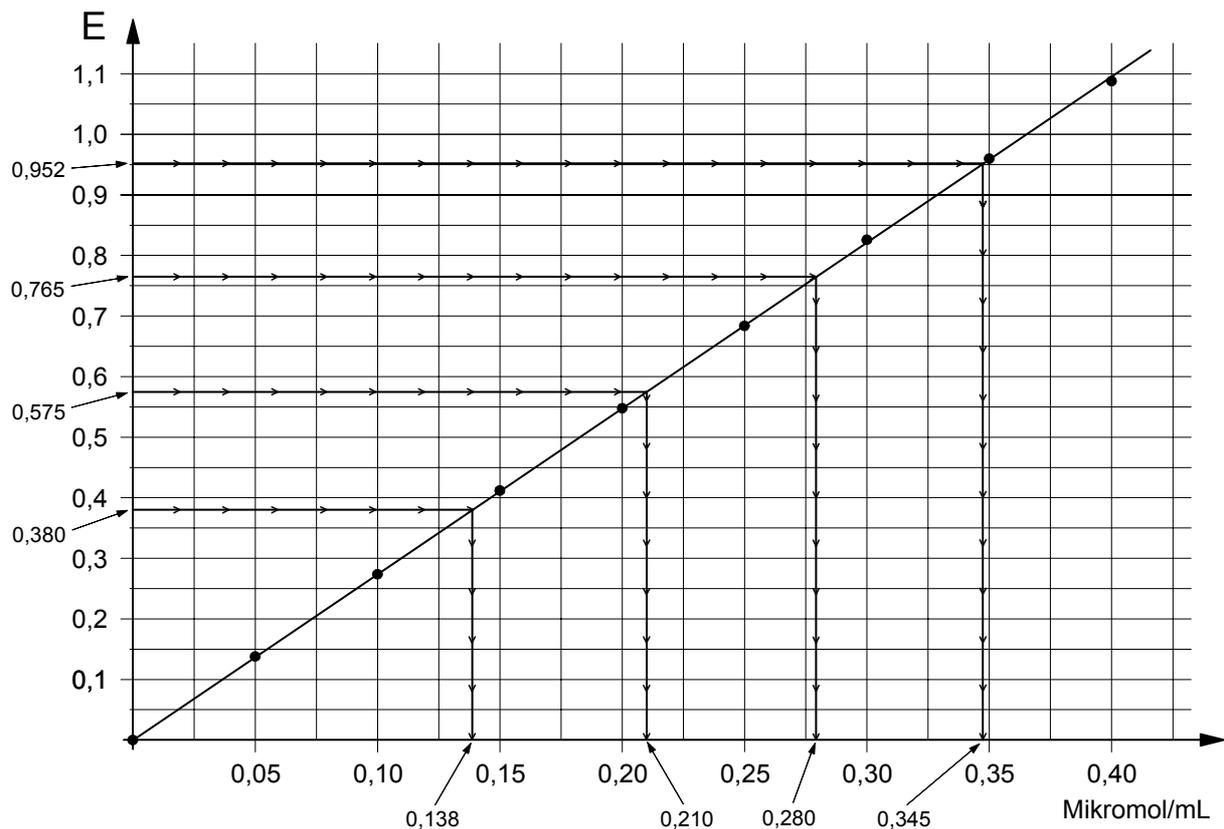
Vorhanden ist z.B. eine Ausgangsstammlösung mit 4,2 g/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (M: 178,0 g/mol). Um den günstigsten Messbereich des Photometers und den linearen Bereich E/c der Methode auszunützen soll die Phosphatkonzentration in der konzentriertesten Messlösung 0,40 $\mu\text{mol/mL}$ (also 20 $\mu\text{mol}/50\text{-mL}$ -Messkolben) betragen. Sinnvoll ist daher die Herstellung einer Arbeitsstammlösung mit 1 mmol/L bzw. 1 $\mu\text{mol/mL}$ an Phosphat.

Die Ausgangsstammlösung enthält 4200 mg/L, das entspricht $4200/178,0 = 23,6$ mmol/L PO_4^{3-} . Um die gewünschte Arbeitsstammlösung zu erhalten verdünnt man z.B. $500/23,6 = 21,19$ mL davon in einem Messkolben auf 500 mL. (Als Alternative könnte man auch 178,0 mg des Salzes für 1000 mL Lösung direkt einwiegen.)

In eine Reihe von 9 Stück 50-mL-Messkolben werden nun steigende Mengen von 0,0 mL; 2,5 mL; 5,0 mL . . . 20,0 mL dieser Arbeitsstammlösung gefüllt und gemäß der Arbeitsvorschrift mit Wasser und den Reagenzien versetzt. Nach dem Auffüllen wird gut gemischt und zur Farbaus- bildung 20 Minuten stehen gelassen. Dann wird in 1-cm-Küvetten bei 400 nm gegen die Blindlösung aus Kolben 1 gemessen. Die Konzentrationen und Messwerte stellt man wegen der besseren Übersichtlichkeit in einer Tabelle zusammen:

Stammlsg.	$\mu\text{mol PO}_4^{3-}$ im Kolben	$\mu\text{mol PO}_4^{3-}/\text{mL}$ Messlösung	Extinktion E	$\varepsilon = E/c \cdot s$
2,5 mL	2,5	0,050	0,138	2,760
5,0 mL	5,0	0,100	0,274	2,740
7,5 mL	7,5	0,150	0,412	2,747
10,0 mL	10,0	0,200	0,548	2,740
12,5 mL	12,5	0,250	0,684	2,736
15,0 mL	15,0	0,300	0,826	2,753
17,5 mL	17,5	0,350	0,960	2,742
20,0 mL	20,0	0,400	1,088	2,720
				Mw.: 2,742

Mit den Tabellenwerten wird auf Millimeterpapier (oder am PC) eine sinnvolle **Kalibrierkurve** für eine spätere graphische Auswertung der unbekanntenen Proben erstellt. Sinnvoll wären z.B. **x-Achse:** (Konz.) 4 oder 5 cm / 0,1 $\mu\text{mol/mL}$ **y-Achse:** (Extinktion) 1 oder 2 cm / 0,1 E-Einheit



2. Extinktionsbestimmung mit der unbekanntem Probenlösung:

Von der völlig unbekanntem Probenlösung werden gemeinsam mit den Kalibrierwerten zwei oder drei grobe Vorversuche angesetzt und gemessen. Man verdünnt dazu z.B. 10 mL Probenlösung auf 100 mL und setzt von dieser verdünnten Lösung 1 mL, 5 mL und 25 mL für die Herstellung der Messlösung ein.

Dabei werden die folgenden Extinktionen gemessen:

1 mL verd. Probe:	$E = 0,480$
5 mL verd. Probe:	$E = > 2,3$
25 mL verd. Probe:	sinnlos zu messen!

Für eine genaue Messung der unbekanntem Probenlösung ist also eine wesentlich stärkere Verdünnung sinnvoll. Bei der vorliegenden unbekanntem Probenlösung wird man z.B. 10 mL auf 500 mL verdünnen. Für vier Einzelversuche setzt man davon 4 mL, 6 mL, 8 mL und 10 mL ein, und verarbeitet diese wie bei der Erstellung der Kalibrierwerte.

Aus dem Diagramm liest man dann die dazugehörigen Konzentrationen ab. Die vier Einzelversuche ergeben folgende Werte:

Messansatz 1:	4 mL ... $E = 0,380 \Rightarrow 0,138 \mu\text{mol/mL}$
Messansatz 2:	6 mL ... $E = 0,575 \Rightarrow 0,210 \mu\text{mol/mL}$
Messansatz 3:	8 mL ... $E = 0,765 \Rightarrow 0,280 \mu\text{mol/mL}$
Messansatz 4:	10 mL ... $E = 0,952 \Rightarrow 0,345 \mu\text{mol/mL}$

3. Schrittweise Berechnung der Ergebnisse:

Messansatz 1:

Aus $0,138 \mu\text{mol/mL}$ ergibt sich: im 50-mL-Messkolben sind $50 \cdot 0,138 = 6,90 \mu\text{mol PO}_4^{3-}$.

Diese waren in 4 mL der verd. Probe.

In 500 mL verd. Probe sind daher $6,90 \cdot 500/4 = 862,5 \mu\text{mol PO}_4^{3-}$.

Diese waren in 10 mL der Ausgangsprobe.

Daher enthält die Ausgangsprobe $862,5 \cdot 100 = 86250 \mu\text{mol/L} \dots \underline{\underline{86,25 \text{ mmol/L PO}_4^{3-}}}$.

Messansatz 2: (analoge Berechnung)

Aus $0,210 \mu\text{mol/mL}$ ergibt sich: im 50-mL-Messkolben sind $50 \cdot 0,210 = 10,50 \mu\text{mol PO}_4^{3-}$.

In 500 mL verd. Probe sind daher $10,50 \cdot 500/6 = 875,0 \mu\text{mol PO}_4^{3-}$.

Daher enthält die Ausgangsprobe $875,0 \cdot 100 = 87500 \mu\text{mol/L} \dots \underline{\underline{87,50 \text{ mmol/L PO}_4^{3-}}}$.

Messansatz 3: (analoge Berechnung)

Aus $0,280 \mu\text{mol/mL}$ ergibt sich: im 50-mL-Messkolben sind $50 \cdot 0,280 = 14,00 \mu\text{mol PO}_4^{3-}$.

In 500 mL verd. Probe sind daher $14,00 \cdot 500/8 = 875,0 \mu\text{mol PO}_4^{3-}$.

Daher enthält die Ausgangsprobe $875,0 \cdot 100 = 87500 \mu\text{mol/L} \dots \underline{\underline{87,50 \text{ mmol/L PO}_4^{3-}}}$.

Messansatz 4: (analoge Berechnung)

Aus $0,345 \mu\text{mol/mL}$ ergibt sich: im 50-mL-Messkolben sind $50 \cdot 0,345 = 17,25 \mu\text{mol PO}_4^{3-}$.

In 500 mL verd. Probe sind daher $17,25 \cdot 500/10 = 862,5 \mu\text{mol PO}_4^{3-}$.

Daher enthält die Ausgangsprobe $862,5 \cdot 100 = 86250 \mu\text{mol/L} \dots \underline{\underline{86,25 \text{ mmol/L PO}_4^{3-}}}$.

Da die Einzelwerte rel. gut miteinander übereinstimmen erhält man durch einfache Mittelwertbildung das Endergebnis.

Die Probe enthält: $86,9 \text{ mmol/L PO}_4^{3-} \dots 8,25 \text{ g/L PO}_4^{3-}$.

Auswertung ohne Kalibrierkurve:

Ist bei einer photometrischen Bestimmungsmethode bekannt bzw. aus den Messwerten bei der Erstellung der Kalibrierkurve ersichtlich, dass im angewandten Mess- bzw. Konzentrationsbereich ein absolut linearer Zusammenhang zwischen Konzentration und Extinktion besteht (also das Lambert-Beer'sche Gesetz volle Gültigkeit hat), kann man den aus mehreren Kalibriermessungen erhaltenen Mittelwert der molaren Extinktion ε zur Berechnung der Konzentrationen in den einzelnen Messlösungen heranziehen, und sich so die graphische Auswertung ersparen. (Es gilt: $c = E/\varepsilon \cdot s$) Die weitere Berechnung über die Verdünnungsstufen erfolgt dann wie oben:

Messung 1: $E = 0,380 \Rightarrow c = 0,380/2,742 = 0,1386 \mu\text{mol/mL} \Rightarrow 86,63 \text{ mmol/L PO}_4^{3-}$

Messung 2: $E = 0,575 \Rightarrow c = 0,575/2,742 = 0,2097 \mu\text{mol/mL} \Rightarrow 87,38 \text{ mmol/L PO}_4^{3-}$

Messung 3: $E = 0,765 \Rightarrow c = 0,765/2,742 = 0,2790 \mu\text{mol/mL} \Rightarrow 87,19 \text{ mmol/L PO}_4^{3-}$

Messung 4: $E = 0,952 \Rightarrow c = 0,952/2,742 = 0,3472 \mu\text{mol/mL} \Rightarrow 86,80 \text{ mmol/L PO}_4^{3-}$

Der Mittelwert aus den vier Messungen ergibt **$87,0 \text{ mmol/L PO}_4^{3-} \dots 8,26 \text{ g/L PO}_4^{3-}$.**