

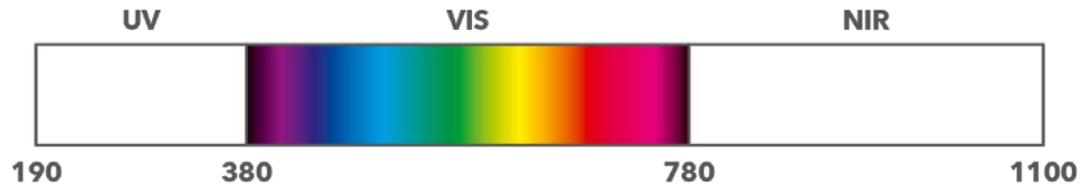
Grundlagen der photometrischen Messung

Teil 1: Grundlagen, Optik, AQS, Testsätze (I)

Einführung

Phos (griech.) für Licht => Photometrie ist ein Messverfahren, bei dem mit Hilfe einer Lichtquelle (wässrige) Lösungen analysiert werden können.

Licht ist physikalisch ein Spektrum von elektromagnetischen Wellen, das man in unterschiedliche Bereiche einteilt: Das sichtbare Licht liegt bei ca. 380 – 780 nm.



Wellenlängenbereich der WTW-Photometer (190-1100 nm)

Photometrische / kolorimetrische Analyse:

Die Bestimmung einer Substanz über ihre spezifische Farbreaktion und Lichtabsorption in Abhängigkeit zur chemischen Eigenschaft bei einer bestimmten Wellenlänge.

Einführung – Lichtquellen und Optik

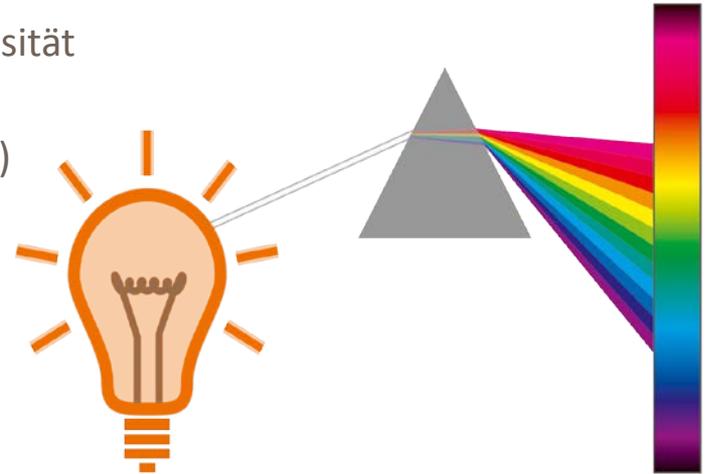
Bestimmte Wellenlängen entstehen durch:

Unterschiedliche Lichtquellen

- LEDs (λ_x) = geringster Strombedarf, geringere Lichtintensität
- Wolfram-Halogen-Lampen (Weißlicht; für VIS-Bereich)
- Xenon-Blitzlampen (UV-VIS-Bereich; lange Lebensdauer)
- Deuterium-Speziellampen (UV-Bereich; sehr teuer)

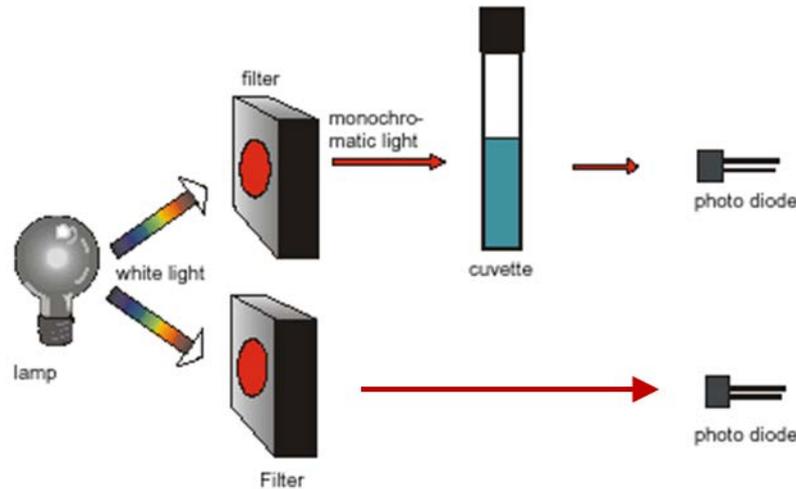
Unterschiedliche Optiken

- Monochromatoren
- Polychromatoren
- Filteroptiken
- LEDs

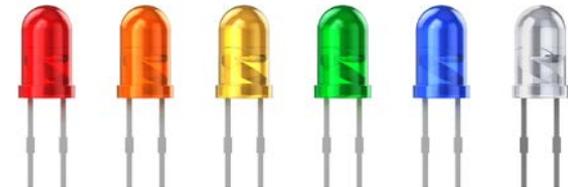


Optik: Filter- und LED-Photometer

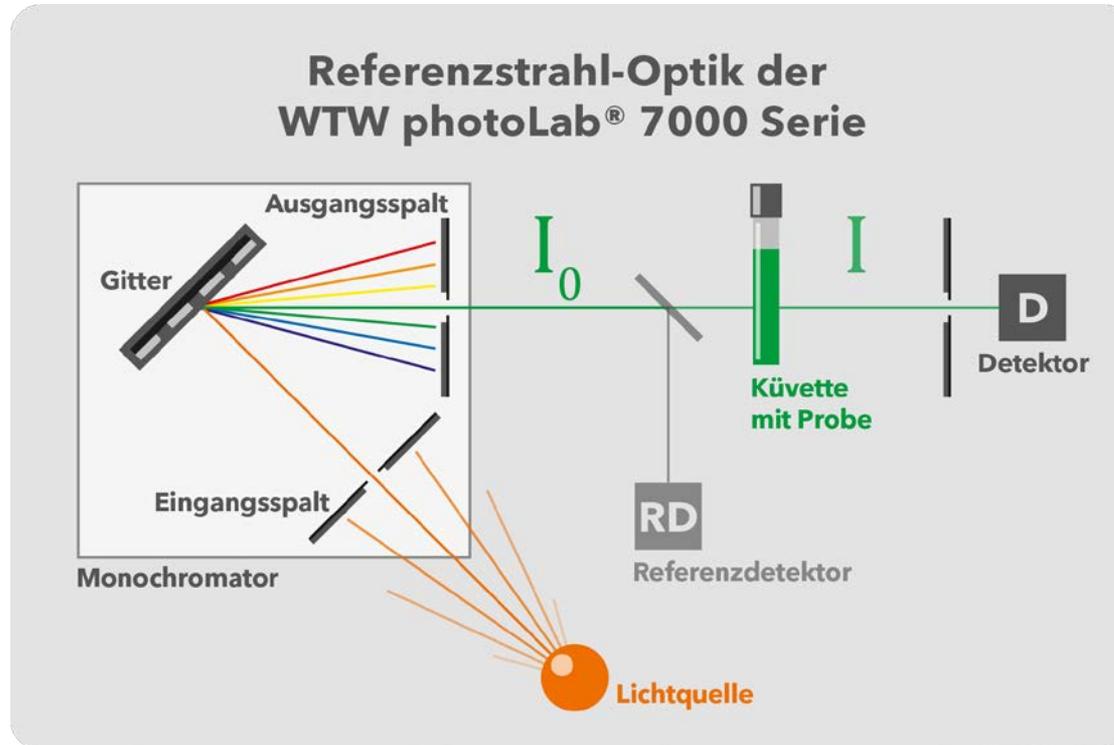
Filter Photometer mit Referenzstrahl: photoLab® S6/S12



LED_λ + optischer Filter : photoFlex® Series



Monochromator der photoLab[®] 7000 Series



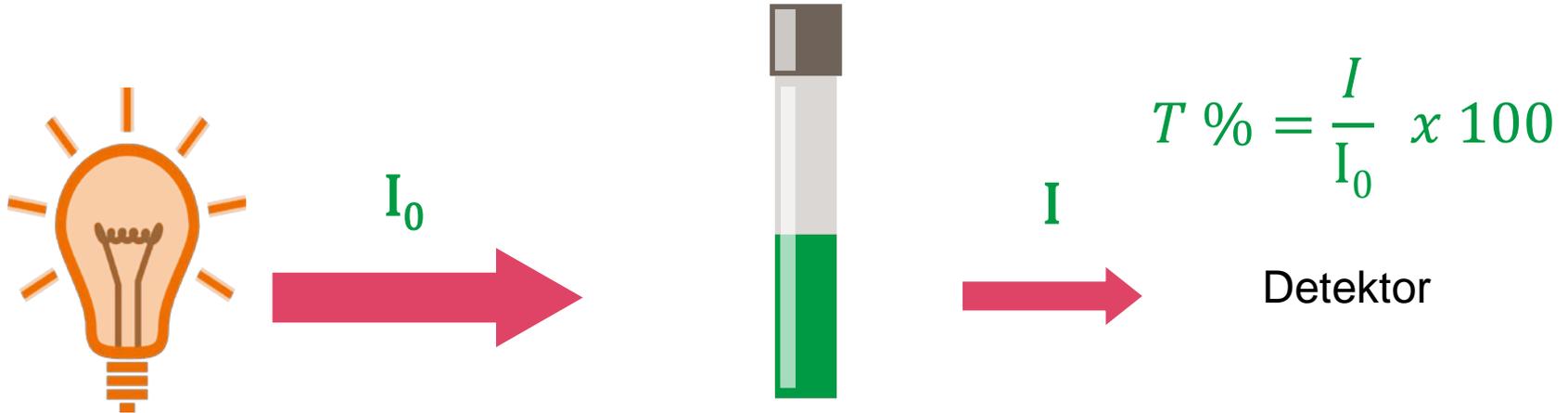
Messmodi

Was für Messarten werden mit einem Photometer durchgeführt?

=> 3 Messarten für die photometrische Analyse und ihre Beziehung zueinander:

- 1) Transmission T(%):** Verhältnis von Lichtintensität nach (I) und vor (I_0) der Küvette
- 2) Extinktion:** $E_\lambda = -\log_{10}(T_\lambda)$
oder "Auslöschen" des Lichts beim Küvettendurchgang
(Anmerkung: im Sprachgebrauch oft auch als Absorption bezeichnet)
- 3) Konzentration:** Quantitative Analyse einer Substanz (mg/l, ppm,...)
bei definierter Wellenlänge auf Basis einer Kalibrierkurve

Transmissions-Messung



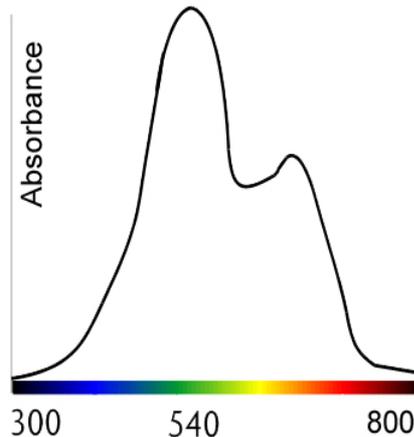
Transmission ist das Verhältnis des durchgelassenen Lichts I / einfallenden Lichts I_0

Die Transmission wird auch zur **Trübungsmessung bei 180°** (Einheit FAU, z.B. in der Qualitätskontrolle) und für die Trübungskorrektur bei der Konzentrationsmessung eingesetzt.

Extinktionsmessung

Extinktion = „Auslöschung von Licht“:

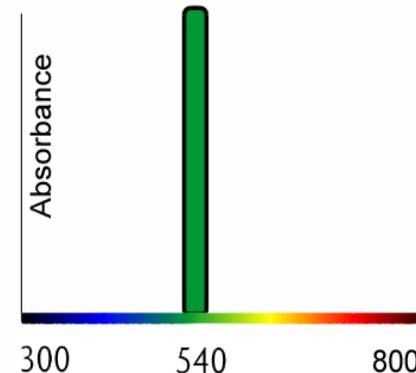
Jeder Stoff hat ein spezifisches Spektrum mit einem oder mehreren Absorptions-Peaks:
Durch ein photometrisches Spektrum bestimmt man Maximum oder Optimum = Wellenlänge für Konzentrationsmessung



Konzentrationsmessung

Konzentrationsmessung:

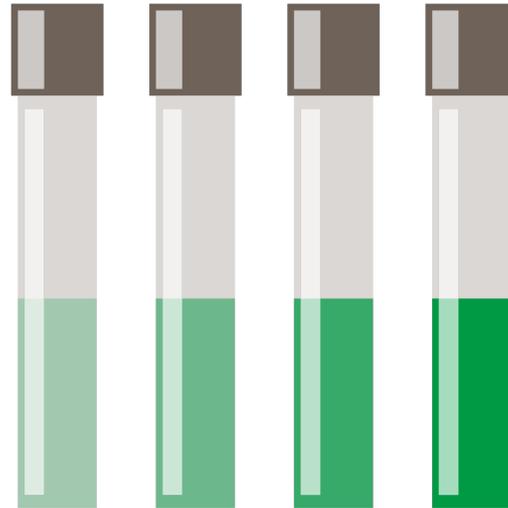
Messung bei einer **spezifischen Wellenlänge**, die über passende LEDs, optische Filter + Weißlicht oder einen Monochromator erzeugt wird



Beziehung von %T - Extinktion - Konzentration

Transmissions-Messung:

Die Transmission einer Probe verändert sich **exponentiell** mit Schichtdicke und Konzentration



Extinktions-Messung:

Die Extinktion in einer Probe verändert sich **proportional** zu Schichtdicke und Konzentration

Transmission (T%)	100	10	1	0,1
Extinktion $E = -\log_{10}(T)$	0	1	2	3
Konzentration (mg/l)	0	4	8	12

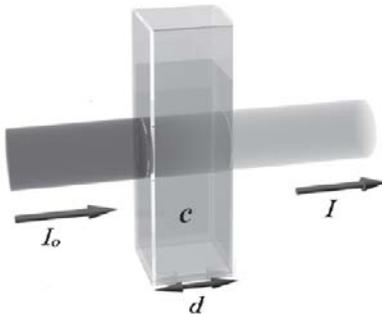
=> **Logarithmisch**

} => **Linearer Zusammenhang**

Beziehung von %T - Extinktion - Konzentration

Lambert-Beer'sches Gesetz

Untersuchungen von BOUGUER (1698–1758) und LAMBERT (1728–1777) zeigten, dass die **Extinktion von der Schichtdicke** der Küvette abhängt. Die Abhängigkeit der **Extinktion von der Konzentration** des Analyten wurde von BEER (1825–1863) gefunden. Die Kombination beider Gesetzmäßigkeiten führte zum Lambert-Beer'schen Gesetz, das durch folgende Beziehung beschrieben werden kann:



$$E = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \cdot d$$

ε_{λ} = molarer Extinktionskoeffizient in l/mol·cm

d = Schichtdicke der Küvette in cm

c = Analyt-Konzentration in mol/l

Quelle: Bedienungsanleitung für photoLab® S12, Teil 1: Allgemeine Hinweise (www.wtw.com)

Konzentrationsmessung

Das Verhältnis von Extinktion/Konzentration wird durch eine **Kennlinie = Kalibrierkurve** für jede Substanz (Parameter) ermittelt.

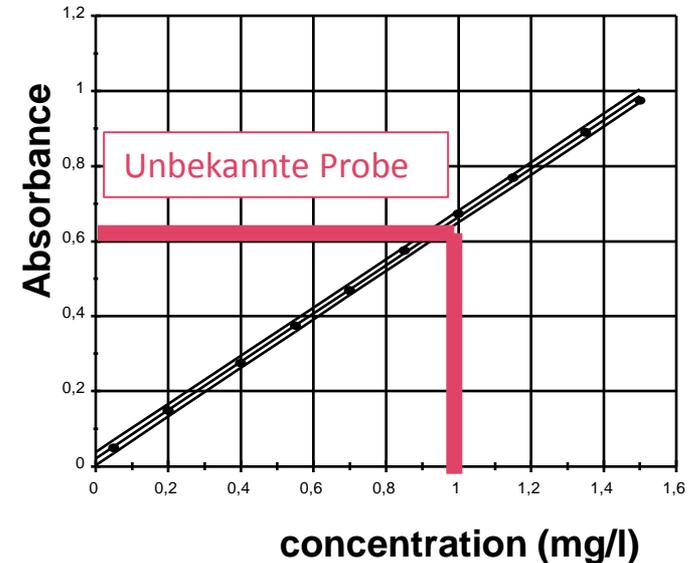
Dazu muß die chemische Reaktion bekannt sein:

Verdünnungsreihe mit definierten Konzentrationen, gemessen bei spezifischer λ und Küvettengröße

⇒ Kennlinie der Kalibrierkurve

⇒ **Unbekannte Probenkonzentrationen** können von der Kurve “gelesen” werden.

Methoden/Programme in Photometern enthalten alle erforderlichen Kalibrierdaten und können das Ergebnis **automatisch berechnen**, auch für unterschiedliche Küvettengrößen. Testsätze mit Barcode rufen zudem die Methode (= Programm) automatisch auf.



Methodendaten für jeden Parameter

Gespeicherte Daten für eine bequeme Messung setzen sich zusammen aus:

λ Richtige Wellenlänge für die Messung

Reagenzienblindwert E_0 = Färbung des Reagenz

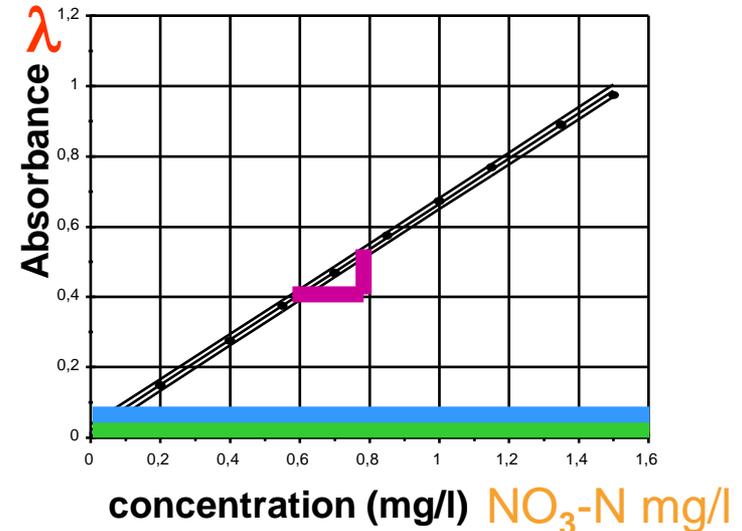
Steigungsfaktor

Zitierform und Einheit (z.B. $\text{NO}_3\text{-N}$ mg/l)

Umrechnungsfaktoren für Wechsel von Zitierform und Einheit (z.B. NO_3 ; mmol/l)

Der Probenblindwert (z.B. gefärbte Proben) ist **nicht** enthalten!

„ E_{Probe} “ addiert sich zu E_0 : probenspezifisch; bei kleinen Probenvolumen im Ansatz jedoch meist vernachlässigbar



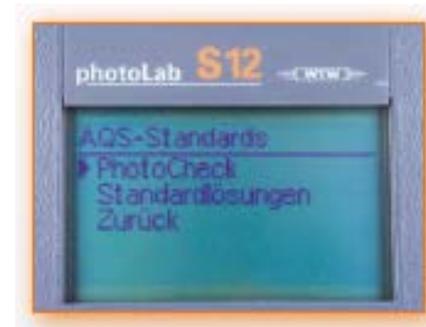
Voraussetzung für die Konzentrationsmessung

- Der Farbstoff liegt in gelöster Form vor.
- Die Lichtextinktion erzeugt eine Färbung (komplementär zu λ)
- Die Farbintensität korreliert mit der Konzentration
- Die chemische Reaktion mit dem Substanz für zur Bildung oder Verminderung (z.B. CSB 4-40 mg/l) der Färbung in einer definierten Reaktionszeit
- Die Reaktion muß selektiv die gesuchte Substanz umsetzen, es dürfen keine Kreuzreaktionen mit anderen **“Stör”**ionen auftreten
- Die Färbung muß eine Zeitlang zur Messung stabil sein
=> z.B. ein Zeitfenster von 10 Minuten nach Ausreagieren ohne Farbzersetzung (s. Analysenvorschriften)



Geräteüberprüfung – AQS

- **Selbsttest** & Aufwärmzeiten (v.a. für Kinetik und Spektren)
- **AutoCheck**: Geräteabgleich gegen Luft im Hintergrund bei photoLab®
- **Null / Basislinie**: Abgleich auf „E₀“
Wichtig nach Transport und wechselnden Umgebungsbedingungen (Temperatur!), da die Gerätenull um einige mE „driftet“
=> Die Messergebnisse sind weniger genau (häufig zu hoch!)
- **AQS-Prüfmittel**:
 - Optische oder Flüssigfilter
 - Farblösungen, z.B. PhotoCheck®
 - Unverkratzte, saubere Küvetten
 - Kontrollstandards der Substanz



FAQ Testsätze – Kurzer Überblick

Messbereich (MB) von Tests:

Der Bereich ist Geräte(optik-)abhängig, die Reaktion hat Nachweisgrenzen. MB-Werte liegen bei max. $\pm 2 - 2,5 E$ (je nach Test).

Am unteren MB-Ende wirken sich **Nachweisgrenze** und **Toleranz** am stärksten aus: Verfahrenskenndaten wie Vertrauensbereich und die **Genauigkeit** fallen meist mit dem unteren Messbereichsende zusammen.

=> Kratzer, Pipettenfehler usw. beeinflussen die Genauigkeit der Messergebnisse **zusätzlich** und führen zu einer höheren Ungenauigkeit!

Man sollte also immer in der Messbereichsmitte messen!

Test: A6/25 Ammonium (WTW)

Messbereich
0,20 - 8,00 mg/l NH ₄ -N
0,20 - 10,00 mg/l NH ₄ ⁺

a): MR-Ende: 0,20 mg/l
Vertrauensbereich: $\pm 0,20$ mg/l

Verfahrenskenndaten:

Empfindlichkeit: Extinktion / 10 E entspricht (mg/l NH ₄ -N)	0,04
Genauigkeit eines Messwerts (mg/l NH ₄ -N)	max. $\pm 0,20$

b): Genauigkeit: $\pm 0,20$ mg/l

FAQ – Die Bedeutung der photometrischen Null

Die Nullung (siehe Handbuch!)

LED Geräte, z.B. pHotoFlex® Serie

Tragbare Geräte verlangen **häufig** eine Null aufgrund von Transport mit wechselnden Bedingungen und Optik.

Filterphotometer, z.B. photoLab® S12

Unter Laborbedingungen und mit Referenzstrahl extrem stabil mit wenig Drift, Nullung **seltener**.

Spektralphotometer, z.B. photoLab® 7000 Serie

Nullung/Basislinie **ist Standard** für viele Aufgaben, im Konzentrationsmodus analog zu Filtergeräten.

Gerätedrift => Nullen

Testanleitungen zeigen teilweise die **Empfindlichkeit** mit der Korrelation Extinktion (E) zu mg/l.

Die Auswirkung ist direkt ablesbar:

Für CSB-Test 14560, 4-40 mg/l CSB, bedeuten 10 mE 0,4 mg/l CSB. **10 mE Drift** ohne Nullung bedeutet 0.4 mg/l – also **10% vermeidbaren Fehlbefund** – am unteren Messbereich!

Verfahrenskenndaten:

	114560
Empfindlichkeit: Extinktion 0,010 E entspricht (mg/l CSB)	0,4
Genauigkeit eines Messwerts (mg/l CSB)	max. ± 1,5