



Messprinzip und theoretischer Hintergrund

Die Photometrie ist ein schnelles und dennoch genaues optisches Analyseverfahren. Mit diesem vergleichsweise simplen Verfahren können gelöste Stoffe quantitativ bestimmt werden. Der Anwendungsbereich der Photometrie ist breit gefasst, er reicht von der klinischen Chemie über Toxikologie, Biologie bis zur Umweltanalytik. Dies zeigt wie wichtig und bekannt das Verfahren ist.

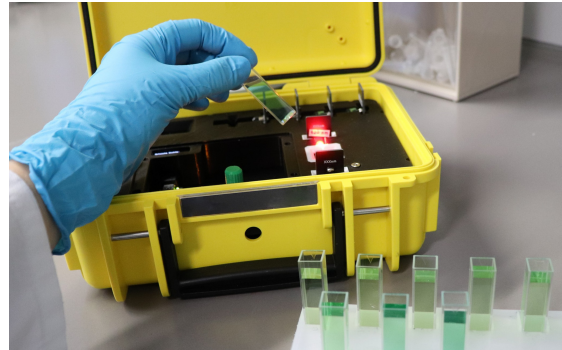


Abb.: Photometer im Laboreinsatz

Prinzip

Das Prinzip der Photometrie ist ein Vergleich zweier Lichtintensitäten. Die Lichtintensität vor (I_0) und nach der Probe (I_1). Ein Photometer kann in drei Teile aufgeteilt werden: Lichtquelle, Probe und Detektor. Die Lichtquelle, hier die LED, sendet monochromatisches Licht aus. Der Lichtstrahl der LED trifft auf die Probe in der Küvette, die einen Teil des Lichts absorbiert. Der Detektor misst die durch die Probe hindurch gehende Intensität des Lichtstrahls (I_1).

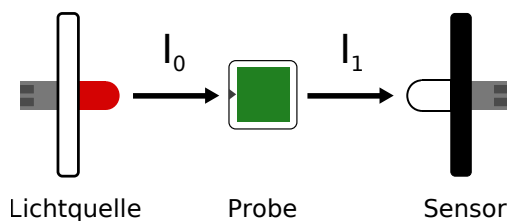


Abb.: Schematischer Aufbau der Messkammer

Berechnung

Aus der Intensität des Lichtstrahls vor der Probe (I_0) und nach der Probe (I_1) lässt sich die Transmission (T) berechnen.

$$T = \frac{I_1}{I_0}$$

Die optische Dichte (OD), ist ein Maß für die Absorption einer Probe, sie lässt sich wie folgt ausdrücken:

$$OD = -\log(T) = -\log_{10}\left(\frac{I_1}{I_0}\right)$$

Sie ist abhängig von den Absorptionseigenschaften der Probe bei der eingestrahlten Lichtwellenlänge (molarer Extinktionskoeffizient für Wellenlänge ϵ), von der molaren Konzentration (c) der Probe und von der Schichtdicke (d) der durchgestrahlten Lösung, d.h. der Breite der verwendeten Küvette.





Lambert-Beer

Lambert-Beersches Gesetz (LBG)

Das LBG gilt nur für monochromatisches Licht und nur für ideal verdünnte Lösungen, da es sonst konzentrationsabhängig wird. Diese Konzentrationsabhängigkeit wird durch intermolekulare Wechselwirkungen wie Komplexbildung, Dissoziation, etc. hervorgerufen.

$$OD = -c \cdot \epsilon \cdot d$$

Mit Hilfe dieser Gleichung lässt sich nach der Messung nun die Konzentration c der Probe bestimmen.

Auswirkungen auf die Messpraxis

Bei photometrischen Messungen ist darauf zu achten, dass die Extinktionen der untersuchten Probe im Bereich von 0,1 bis 1 liegen. Außerhalb dieses Bereiches lassen sich keine präzisen Analysen mehr durchführen. Bei zu stark konzentrierten Lösungen muss dann eine Verdünnung gemessen werden.

Einfluss der Wellenlänge

Auswahl der passenden Wellenlänge

Jeder Stoff hat ein spezifisches Absorptionsspektrum. Innerhalb dieses Absorptionsspektrums ergeben sich ein oder mehrere Absorptionsmaxima. Üblicherweise misst man mit der Wellenlänge des Absorptionsmaximums oder in der Nähe des Absorptionsmaximums, da der Stoff dort am besten absorbiert. Die anderen in der Probe enthaltenen Stoffe sollten in diesem Bereich nur gering absorbieren.

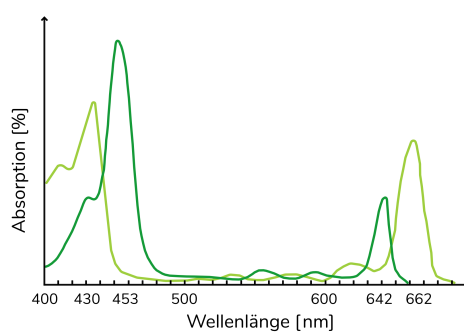


Abb.: Spektrum von Chlorophyll (a/b) mit Kennzeichnung der für das desklab Photometer verfügbaren Wellenlängen

elektromagnetisches Spektrum

Das Spektrum elektromagnetischer Wellen erstreckt sich von den langwelligeren Radiowellen (größer 1 m) über die Mikrowellen und Infrarot (IR, 780 nm bis 1 mm) bis zum sichtbaren Bereich (VIS, 380 nm bis 780 nm). Unterhalb des sichtbaren Bereichs befindet sich die Ultraviolett- (UV, 380 nm bis 10 nm), Röntgen- (10 nm bis 1 pm) und die extrem kurzwellige, energiereiche Gammastrahlung. Je größer die Wellenlänge, desto energieärmer sind die Wellen. Das menschliche Auge kann nur Wellen zwischen etwa 380 und 780 nm wahrnehmen (sichtbares Spektrum). Mit einem Prisma oder einem optischen Gitter lässt sich Licht in Wellenlängenbereiche zerlegen. Es entstehen die sogenannten Spektralfarben: violett (380 bis 420 nm), blau (420 bis 490 nm), grün (490 bis 560 nm), gelb (560 bis 590 nm), orange (590 bis 650 nm) und rot (650 bis 780 nm).





M40 Photometrie

Messprinzip und Informationen zur Durchführung

Dokument GC-M40

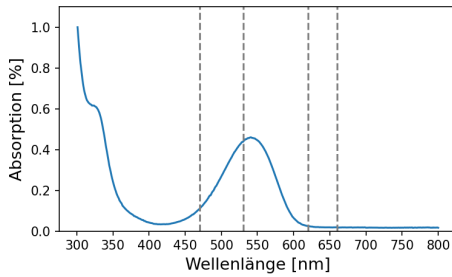
Version 0.2.0

Seite 3 von 5

Auswahl der Wellenlänge

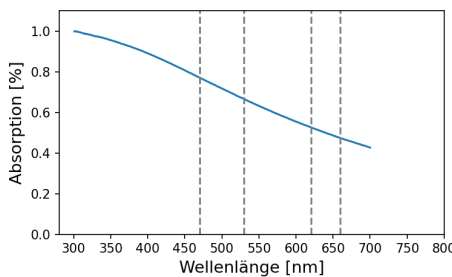
Aufgabe: Notiere für die folgenden Absorptionsspektren die Wellenlänge, bei der die photometrische Messung durchgeführt werden soll. Die zur Verfügung stehenden Wellenlängen sind als vertikale Linien eingezeichnet und liegen bei 470, 530, 630 und 660 nm.

Nitrat



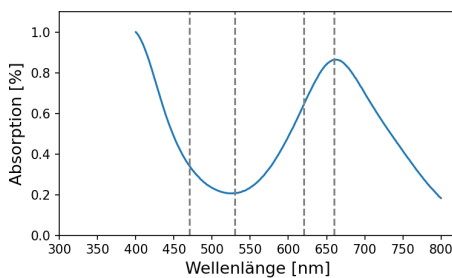
ausgewählte Wellenlänge:

Sulfat



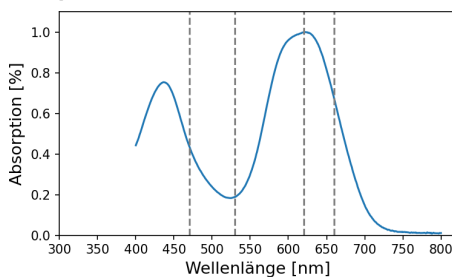
ausgewählte Wellenlänge:

Ammonium



ausgewählte Wellenlänge:

Phosphat



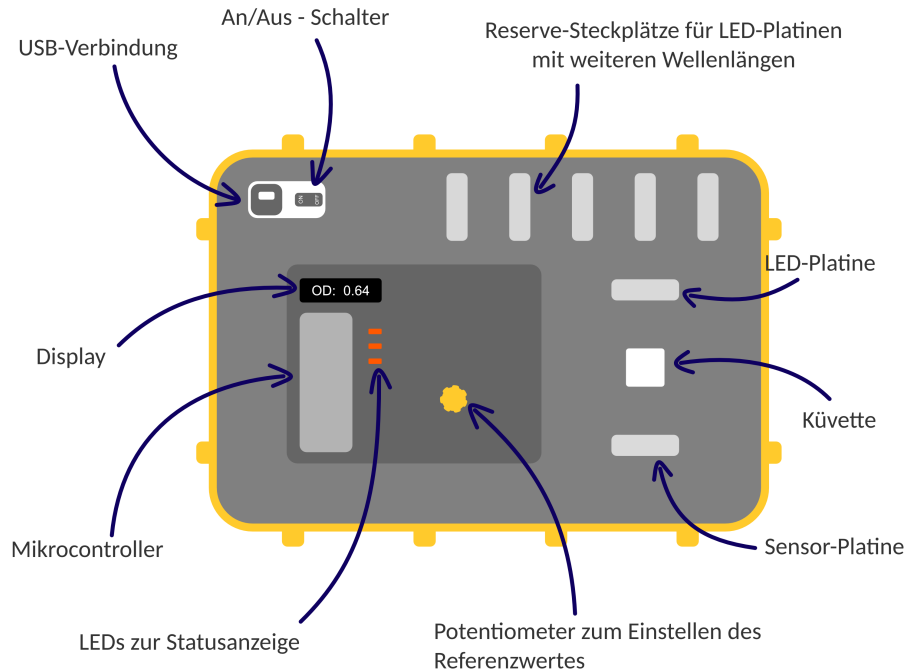
ausgewählte Wellenlänge:





Messgeräts und Referenzwert

Messgerät



Referenzwert

Um die Konzentration eines Stoffes in einer Lösung mit einem Photometer zu messen, muss man zunächst einen Vergleichswert einstellen, den Null- bzw. Referenzwert. Dieser ergibt sich aus der Messung des reinen Lösungsmittels, also des Lösungsmittels ohne den betreffenden Stoff (daher Null), dessen Konzentration bestimmt werden soll. Daher muss zunächst bei jeder photometrischen Messung der Konzentration einer Lösung das reine Lösungsmittel selbst ins Photometer gestellt und der Referenzwert gesetzt werden,

d.h. der angezeigte Wert wird mit dem Potentiometer (gelber Einstellknopf) auf Null gestellt. Wenn nun im nächsten Schritt die Lösung mit dem darin enthaltenen Stoff ins Photometer gestellt wird, misst das Gerät die optische Dichte im Vergleich zum zuvor eingestellten Null- bzw. Referenzwert der reinen Lösung. Damit erhält man die Angabe über die optische Dichte des Stoffes in dieser Lösung und kann nun dessen Konzentration ermitteln.

Führe folgende Schritte aus, um den Referenzwert auf Null zu setzen:

1. Stelle eine mit dem Lösungsmittel gefüllte Küvette in die Messkammer und schließe den Deckel.
2. Drehe am Potentiometer, bis der Wert auf dem Display möglichst nahe bei 0 liegt.

Nun kann die Messung der Proben vorgenommen werden. Dabei ist darauf zu achten, dass die Stellung des Potentiometers nicht verändert wird.



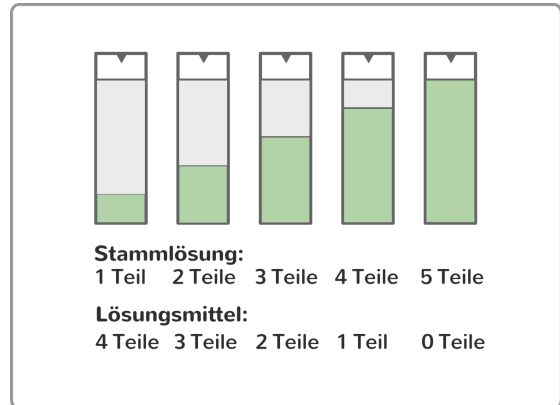


Erstellen und Verwenden einer Kalibrierung

Erklärung

Zur Bestimmung der Konzentration einer unbekannt Probe muss zuerst eine Kalibrierung durchgeführt werden. Eine Kalibrierung erstellt man, indem man verschiedene, aber bekannte Konzentrationen des gleichen Stoffes misst und die bekannte Konzentration gegen die gemessene Optische Dichte (OD) darstellt.

Mit diesen Ergebnissen kann man anschließend durch Ablesen aus dem Diagramm (grafische Methode) oder indem man eine Gerade durch die Messpunkte berechnet (rechnerische Methode) die unbekannte Konzentration einer Probe von der gemessenen Optischen Dichte ableiten.



Durchführung

Führe folgende Schritte aus, um eine Verdünnungsreihe zu erstellen und zu messen:

1. Bereite eine Verdünnungsreihe vor. Dazu gibst du je 1, 2, 3, 4 und 5 Teile deiner Probe in einen neuen Behälter. Fülle nun mit dem Lösungsmittel auf insgesamt 5 Teile auf.
2. Messe jetzt die vorbereitete Verdünnungsreihe und notiere die OD-Werte in einer Tabelle.
3. Übertrage die Werte der Tabelle in ein Diagramm bei der du OD-Werte in Abhängigkeit der Konzentration darstellst.

