

# Photometrische Analyse

Zur chemischen Analyse gelöster Stoffe können neben spezifischen chemischen Reaktionen auch physikalische Effekte genutzt werden. In diesem Praktikumsversuch werden die Grundlagen der photometrischen Analyse behandelt. Sie basiert auf der Abhängigkeit der Extinktion eines Lichtstrahls beim Durchgang durch eine Lösung von der Konzentration darin gelöster Substanzen. Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz nimmt die Transmission exponentiell mit zunehmender Konzentration ab. Für die Berechnung von Konzentrations- und Mischungsverhältnissen ist es daher vorteilhaft, logarithmierte Größen, wie z.B. die Extinktion zu betrachten, denn diese nimmt proportional zur Konzentration zu und die Beiträge verschiedener Substanzen addieren sich. Da die Extinktion von der Wellenlänge abhängt, können durch Messungen bei verschiedenen Wellenlängen auch die Konzentrationen mehrerer Substanzen unabhängig ermittelt werden. Dies gelingt umso besser, je unterschiedlicher die Extinktionsspektren sind.

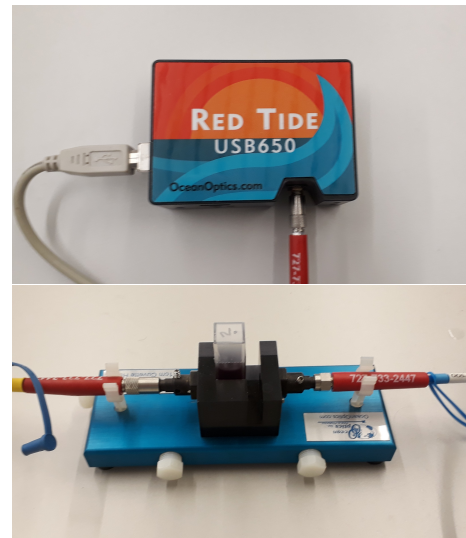
## 1 Lernziele

- Optische Spektroskopie,
- Transmission, Extinktion, Absorption,
- Lambert-Beersches Gesetz,
- Emissions- und Absorptionsspektren
- Reaktionskinetik
- Photometrische Analyse

## 2 Experimenteller Aufbau

### Messaufbau

- Wolframlampe,
- Küvettenhalter,
- OceanOptics RedTide USB-Spektrometer,
- Lichtwellenleiter
- Neutralfilter
- Plastikküvetten
- Einwegpipetten
- Waage
- Chemikalien:
  - Kaliumpermanganat  $\text{KMnO}_4$
  - Kristallviolett  $\text{C}_{25}\text{N}_3\text{H}_{30}\text{Cl}$
  - Kupfersulfat  $\text{CuSO}_4$
  - Natronlauge  $\text{NaOH}$



## 3 | Messung - | Durchführung - | Auswertung

### 3.1 Abhängigkeit der Extinktion einer $\text{KMnO}_4$ -Lösung von der Konzentration

Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz nimmt die Transmission einer Lösung absorbierender Stoffe exponentiell mit deren Konzentration ab. In diesem Experiment werden mit Hilfe eines Photospektrometers die Extinktionsspektren von Kaliumpermanganatlösungen unterschiedlicher Konzentration bestimmt und daraus die Abhängigkeit des Absorptionskoeffizienten von der Konzentration bei verschiedenen Wellenlängen ermittelt und mit dem Lambert-Beerschen Gesetz verglichen.

- 1) Stellen Sie 200 ml einer 0.001 M  $\text{KMnO}_4$ -Lösung her. Die Molmasse von  $\text{KMnO}_4$  beträgt 158.03 g/mol.
- 2) Stellen Sie aus dieser Stammlösung (100%) drei Verdünnungen mit 75%, 50% und 25% der Konzentration her.
- 3) Befüllen Sie vier Küvetten zu etwa  $\frac{3}{4}$  mit jeweils einer Lösung und eine fünfte Küvette mit

destilliertem Wasser, das als Referenz dient.

- 4) Messen Sie nun die Extinktionsspektren der vier Lösungen. Zur Bedienung der software SpectraLab finden Sie eine Kurzanleitung am Arbeitsplatz.
- 5) Speichern Sie die Daten. Legen Sie dazu einen Ordner mit dem Datum des Versuchs an und benennen Sie die Dateien nach der gemessenen Lösung.
  - a) Übertragen Sie die Messwerte in das Auswerteprogramm QtiPlot.
  - b) Wählen Sie eine geeignete Wellenlänge. Tragen Sie die gemessene Extinktion gegen die dazugehörige Konzentration auf und ermitteln Sie die spezifische Absorptionskonstante  $\alpha_{\text{KMnO}_4}(\lambda_1)$  sowie den molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten  $\epsilon_{\text{KMnO}_4}(\lambda_1)$ .
  - c) Wiederholen Sie die Bestimmung von  $\alpha$  und  $\epsilon$  für zwei weitere Wellenlängen.

### 3.2 Untersuchung der Reaktionskinetik

Kristallviolett zeigt in polaren Lösungsmitteln, wie z.B. Wasser, ein ausgeprägtes Absorptionsspektrum im optischen Wellenlängenbereich. Eine besondere Rolle spielt dabei ein zentrales Kohlenstoffatom, das diese Funktion jedoch durch Reaktion mit  $\text{OH}^-$ -Gruppen verliert. Der zeitliche Verlauf der Reaktion nach Zugabe von NaOH (Natronlauge) kann mit Hilfe der Photometrischen Analyse verfolgt werden. Unter geeigneten Bedingungen entspricht der Verlauf einer Reaktion erster Ordnung, d.h. der Stoffumsatz erfolgt exponentiell mit der Zeit (siehe Abschnitt 5.3).

- 1) Stellen Sie 400 ml einer  $5 \cdot 10^{-6}$  M Kristallviolettlösung her. Die Molmasse von  $\text{C}_{25}\text{N}_3\text{H}_{30}\text{Cl}$  beträgt 407.99 g/mol.
- 2) Nehmen Sie als Referenz das Absorptionsspektrum von Wasser auf.
- 3) Das Messprogramm muss vor der Messung der Reaktionskinetik kalibriert werden. Nehmen Sie zunächst das Absorptionsspektrum der Stammlösung auf und wählen Sie den Wellenlängenbereich, in dem die Kinetik untersucht werden soll. Stellen Sie dann durch Verdünnen der Stammlösung weitere Lösungen mit den Konzentrationen  $c = 4 \cdot 10^{-6}$  M,  $c = 3 \cdot 10^{-6}$  M,  $c = 2 \cdot 10^{-6}$  M und  $c = 1 \cdot 10^{-6}$  M her und nehmen Sie die Absorptionsspektren auf. Zur Bedienung der software SpectraLab finden Sie eine Anleitung am Arbeitsplatz.
- 4) Geben Sie mit einer Pipette etwa drei Tropfen 0.5 M Natronlauge in eine Küvette mit der Stammlösung und stellen Sie diese in die Messvorrichtung.
- 5) Nehmen Sie die Reaktionskinetik auf. Die Kristallviolettlösung wird sich innerhalb von etwa 20 Minuten entfärben.
  - 1) Übertragen Sie die Daten in QtiPlot.
  - 2) Bestimmen Sie die Reaktionszeitkonstante  $T_R$  im zeitlichen Verlauf der Stoffmenge bei einer Reaktion erster Ordnung,  $c(t) = c_0 \exp(-t/T_R)$ . Prüfen Sie, ob für eine gute Anpassung der Daten ein konstanter offset zur Exponentialfunktion addiert werden muss.

### 3.3 Additivität von Absorptionskonstanten

Aus dem Lambert-Beerschen Gesetz folgt, dass sich die Beiträge von Teilmengen einer Substanz zur Absorptionskonstante addieren. Nach Gleichung (6) gilt diese Additivität auch für die Extinktion einer Mischung unterschiedlicher Stoffe. Dies ist die Grundlage der chemischen Analyse mit Hilfe von Absorptionsspektren.

- 1) Stellen Sie 200 ml einer 0,22 M Kupfersulfatlösung her. Die Molmasse von  $\text{CuSO}_4$  beträgt 159,609 g/mol.
- 2) Stellen Sie nun eine Mischung aus der Kaliumpermanganat-Stammlösung (Aufgabe 1) und der Kupfersulfat-Stammlösung im Verhältnis 1:1 her. Wie hoch sind die Konzentrationen der beiden Salze in dieser Mischung relativ zu den Stammlösungen?
- 3) Nehmen Sie als Referenz das Absorptionsspektrum von Wasser auf.
- 4) Messen Sie nun die Extinktionsspektren der Kupfersulfat-Stammlösung, der Kaliumpermanganat-Stammlösung und der 1:1-Mischung.

- 5) Sie erhalten abschließend vom Betreuer eine Probe mit unbekanntem Mischungsverhältnis der beiden Stammlösungen. Messen Sie das Extinktionsspektrum dieser Probe.
  - 1) Übertragen Sie die Daten in QtiPlot.
  - 2) Erstellen Sie eine Grafik mit dem Extinktionsspektrum der 1:1-Mischung der Stammlösungen. Berechnen Sie die Summe der mit dem Faktor 0.5 gewichteten Extinktionsspektren beider Stammlösungen und fügen Sie die berechnete Kurve in das Diagramm ein. Beschreiben Sie Ihre Beobachtung. Bei welchen Wellenlängen  $\lambda_{\text{KMnO}_4}$  und  $\lambda_{\text{CuSO}_4}$  erwarten Sie eine hohe Sensitivität der Analyseverfahren bezüglich der beiden Substanzen?
  - 3) Die Selektivität beschreibt, wie gut die Extinktionsbeiträge der beiden Stoffe voneinander getrennt werden können. Wie würden Sie diese bewerten? Wie groß ist das Verhältnis der Extinktionen zwischen der schwach und der stark absorbierenden Komponente bei den beiden Wellenlängen?
  - 4) Erstellen Sie eine Grafik mit dem Extinktionsspektrum der unbekanntem Mischung. Berechnen Sie bei jeweils geeigneten Wellenlängen den Anteil der beiden Komponenten in der Lösung (Gleichung 6). Passen Sie die Anteile an, so dass  $x_{\text{KMnO}_4} + x_{\text{CuSO}_4} = 1$ . Berechnen Sie die gewichtete Summe aus den gemessenen Extinktionsspektren der beiden Stammlösungen,

$$E(\lambda)_{\text{mix}} = x_{\text{KMnO}_4} \cdot E_{\text{KMnO}_4}(\lambda_{\text{KMnO}_4}) + x_{\text{CuSO}_4} \cdot E_{\text{CuSO}_4}(\lambda_{\text{CuSO}_4})$$

und tragen Sie das Ergebnis in die Grafik mit dem gemessenen Spektrum ein.

- 5) Wie ist das Mischungsverhältnis in der unbekanntem Probe?

## 4 Vorbereitung, Fragen und Berechnungen vor Versuchsantritt

### 4.1 Vorbereitung

Informieren Sie sich zur Vorbereitung auf das Praktikum über die Themen, die oben als Lernziele genannt sind. Lesen Sie sorgfältig Kapitel 5. Wir empfehlen außerdem die unten aufgeführten Lehrbücher zum Physikalischen Praktikum. Diese Bücher sind im internen Netz der UdS kostenlos zugänglich.

### 4.2 Fragen und Berechnungen

Beantworten Sie vor dem Versuchstermin folgende Fragen schriftlich in Ihrem Laborbuch:

- 1) Was versteht man unter der Stoffmengenkonzentration? Wie hängt sie mit der Molmasse und der Masse der Komponenten zusammen? Wie stellt man eine 0,1M ('M'='molar'=mol/l) Kochsalzlösung her?
- 2) Was ist eine gesättigte und eine ungesättigte Lösung? Was bedeutet der Begriff 'echte' Lösung und was sind Gegenbeispiele?
- 3) Was ist ein kolloidales System?
- 4) Was ist ein Spektrum?
- 5) Was versteht man unter einem Emissionsspektrum und einem Absorptionsspektrum?
- 6) Wie unterscheiden sich Atom-, Molekül- und Festkörperspektren grundsätzlich (ohne Details)?
- 7) Was versteht man unter der spektralen Bandbreite des Lichts?
- 8) Im Innern eines absorbierenden Stoffes ist die relative Abnahme der Intensität  $dI/I = -Kdx$ , wenn sich das Licht in x-Richtung ausbreitet. Man leite daraus das Absorptionsgesetz Gl. (1) her.
- 9) Was ist das charakteristische Merkmal einer chemischen Reaktion **erster** Ordnung? Wie ist der zeitliche Verlauf der reagierten Stoffmenge? Beschreiben Sie in groben Zügen den Entfärbungsprozess von Kristallviolettlösung bei Zugabe von Natronlauge.

- [1] Hans Joachim Eichler, Heinz-Detlef Kronfeldt, Jürgen Sahn, *Das neue Physikalische Grundpraktikum*, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, 2016.
- [2] Christoph Kommer, Tim Jugendhat, Niklas Wahl, *Tutorium Physik fürs Nebenfach*, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, 2015.
- [3] Wolfgang Schenk, Friedrich Kremer, *Physikalisches Grundpraktikum*, Springer Spektrum Wiesbaden, 2014.

## 5 Zusatzmaterial

### 5.1 Spektralanalyse

Das Ziel der chemischen Analyse ist die Bestimmung der Art und Menge von Substanzen in einer Probe. Zu diesem Zweck existieren zahlreichen Verfahren, die auf spezifische chemische Reaktionen (z.B. Fällung, Färbung, pH-Änderung) oder physikalische Effekte zurückgreifen. Zu den physikalischen Methoden zählen neben der Chromatographie, Massenspektrometrie, Spinresonanz- und Mößbauerspektroskopie auch die Absorptions- und Emissionsspektralanalyse. Letztere basieren auf der Erkenntnis, dass elektronische Übergänge in chemischen Elementen und deren Verbindungen bei charakteristischen Wellenlängen angeregt werden, oder dass dabei Licht mit bestimmter Wellenlänge emittiert wird. Im Idealfall liefert das Absorptions- bzw. Emissionsspektrum einen Fingerabdruck der in der Probe enthaltenen Substanzen. Allerdings enthalten nur Atomspektren scharfe Linien in geringer Anzahl. Durch die Bildung chemischer Verbindungen entstehen Molekülorbitale mit einer Vielzahl möglicher Übergänge mit entsprechend komplexen Absorptionsspektren. Gerade im Hinblick auf die nahezu unbegrenzte Vielfalt chemischer Verbindungen liefert diese Komplexität die Grundlage dafür, Substanzen voneinander unterscheiden zu können. Kondensieren Atome bzw. Moleküle zu Flüssigkeiten oder Festkörpern, dann gehen die zunächst scharfen Linien aufgrund der Wechselwirkungen in breite Wellenlängenbereiche (Absorptionsbanden) über. Dies gilt für reine Phasen, z.B. Wasser oder einkomponentige Metalle, aber auch für Lösungen einer Substanz in einem Lösungsmittel. In der Regel beobachtet man verschiedene Absorptionsbanden, die durch Spektralbereiche mit verschwindend kleiner Absorption getrennt sind. Sofern keine Absorptionsbande im Wellenlängenbereich des sichtbaren Lichts liegt, ist die Substanz transparent.

Für die Spektralanalyse von Lösungen ist es besonders günstig, wenn die nachzuweisende Substanz eine starke Absorptionsbande in einem Wellenlängenbereich aufweist, in dem das Lösungsmittel transparent ist. Damit ist augenscheinlich klar, dass eine Substanz, die in Lösung Wasser verfärbt, anhand des Absorptionsspektrums analysiert werden kann. Dabei stehen zwei Fragen im Vordergrund. Welche Substanz ist enthalten (qualitative Analyse) und in welcher Konzentration ist sie enthalten (quantitative Analyse)? Die erste Frage, die im Wesentlichen durch Identifizieren des spektralen Fingerabdruck gelöst wird, ist nicht Thema dieses Versuchs im Grundpraktikum. Die Antwort auf die zweite Frage liefert das Absorptionsgesetz, das im Folgenden beschrieben wird.

### 5.2 Das Absorptionsgesetz

Die von einer absorbierenden Substanz durchgelassene Lichtintensität  $I$  bezogen auf die einfallende Intensität  $I_0$  nimmt exponentiell mit der Schichtdicke  $d$  ab. Die stoffspezifische Stärke der Absorption wird durch eine Materialkonstante, die Absorptionskonstante  $K$  erfasst. Ihre Größe hängt von der Wellenlänge  $\lambda$  des Lichtes ab. Das Absorptionsgesetz lautet:

$$\frac{I}{I_0} = \exp(-K(\lambda)d) \quad (1)$$

Eine für die photometrische Analyse von Lösungen entscheidende Erweiterung stellt das Lambert-Beersche Gesetz dar. Danach gilt für die Lösung einer Substanz mit Konzentration  $c$  in einem transparenten Lösungsmittel

$$\frac{I}{I_0} = \exp(-\alpha(\lambda)cd) \quad (2)$$

Dabei ist  $\alpha(\lambda)$  die von der Wellenlänge abhängige **spezifische** Absorptionskonstante. In der Photometrie häufig verwendete Begriffe, die Transmission  $T$  und die Extinktion  $E$  stehen in folgendem Zusammenhang,

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-E} \quad (3)$$

bzw.

$$E = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = -\log(T). \quad (4)$$

Wird im Zuge der Spektralanalyse die Extinktion experimentell bestimmt, dann gilt

$$E = \epsilon(\lambda) c d \quad (5)$$

wobei  $\epsilon = \alpha \cdot \log e$  als molarer dekadischer Extinktionskoeffizient bezeichnet wird. Diese stoffspezifische Größe kann durch eine Reihe von Extinktionsmessungen bei verschiedenen Konzentrationen ermittelt werden.

Sofern in der untersuchten Proben nur eine einzelne Substanz gelöst ist, kann deren Konzentration aus der Extinktion bei einer einzelnen Frequenz bestimmt werden. Befinden sich jedoch mehrere Stoffe in Lösung, dann setzt sich die Gesamtextinktion aus den einzelnen Beiträgen additiv zusammen,

$$E_{ges} = E_1 + E_2 + \dots = (\epsilon_1 c_1 + \epsilon_2 c_2 + \dots) \cdot d \quad (6)$$

und eine eindeutige Bestimmung der Konzentration ist nicht möglich. Um das Problem zu lösen, muss für jede zusätzliche Substanz eine Extinktionsmessung bei einer zusätzlichen Wellenlänge durchgeführt werden. Dadurch erhält man ein lineares Gleichungssystem, dessen Lösung die gesuchten Konzentrationen liefert. Dies setzt voraus, dass die Gleichungen linear unabhängig sind, d.h. dass sich die Absorptionsspektren bei den gewählten Frequenzen unterscheiden müssen. Die Lösung wird besonders einfach, wenn die zu trennenden Substanzen starke, nicht überlappende Absorptionsbanden aufweisen und diese Wellenlängen für die Analyse gewählt werden.

### 5.3 Exponentialfunktion

Das Absorptionsgesetz ist ein klassisches Beispiel für ein physikalisches Phänomen, das durch eine Exponentialfunktion beschrieben wird. Die Exponentialfunktion spielt tatsächlich eine herausragende Rolle, da sie in zahlreichen Fällen Anwendung findet, z.B. zur Beschreibung des zeitlichen Verlaufs der Zerfallsrate eines radioaktiven Isotops oder der Dämpfung einer mechanischen oder elektrischen Schwingung. Allen diesen Beispielen liegt ein Modellansatz zugrunde, der zu einer Differentialgleichung der Form  $dy/dx = \alpha \cdot y(x)$  führt. Da die Ableitung der Exponentialfunktion wieder eine Exponentialfunktion ist, liefert  $y(x) = a \exp(\alpha x)$  einen Lösungsansatz für diese Gleichung. In den oben genannten Beispielen wird der Wert der betrachteten Größe mit zunehmender Zeit oder Laufstrecke kleiner, d.h.  $\alpha < 0$ . Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz zeigt auch die Lichtintensität beim Durchgang durch eine Lösung einen exponentiellen Abfall.

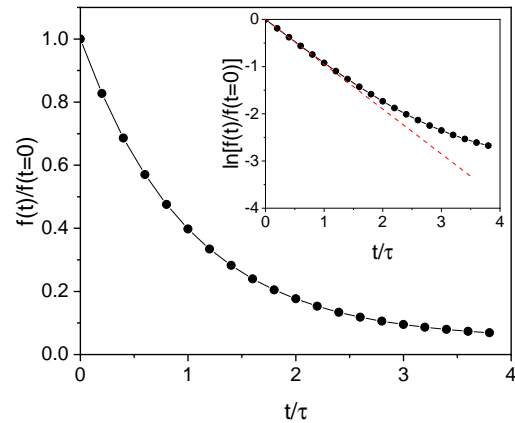
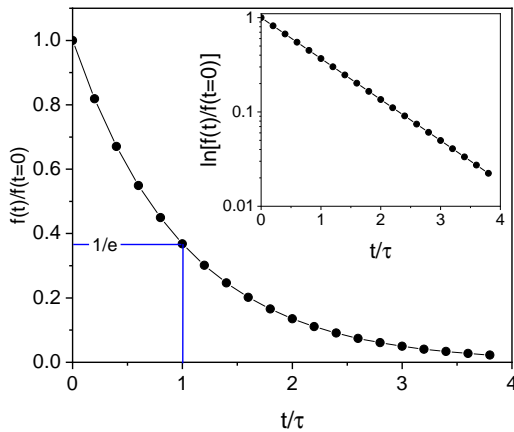
Bei der Auswertung von Experimenten, bei denen ein exponentieller Verlauf vermutet wird, gibt es zwei Varianten:

#### A: Halblogarithmische Auftragung und lineare Regression

Tragen Sie statt  $y(x)$  die Funktion  $\ln y$  gegen  $x$  auf. Sofern  $y(x) = a \exp(\alpha x)$  gilt, liefert diese Auftragung eine Gerade,  $\ln y = \ln a + \alpha x$ . Diese Auftragung ist besonders hilfreich, da Abweichungen vom exponentiellen Verlauf mit bloßem Auge nicht erkennbar sind, in der Geradendarstellung aber sofort auffallen.

#### B: Lineare Auftragung und nichtlineare Regression

Die Auswertesoftware bietet die Möglichkeit, Datensätze durch eine Vielzahl, auch benutzerdefinierter Funktionen anzupassen. Die Anpassung der Modellparameter basiert auf einer iterativen Minimierung des mittleren Abweichungsquadrates zwischen Modellfunktion und den vorliegenden Daten. Eine detaillierte Anleitung zur nichtlinearen Regression in Origin oder SciDAVis finden Sie an Ihrem Arbeitsplatz.

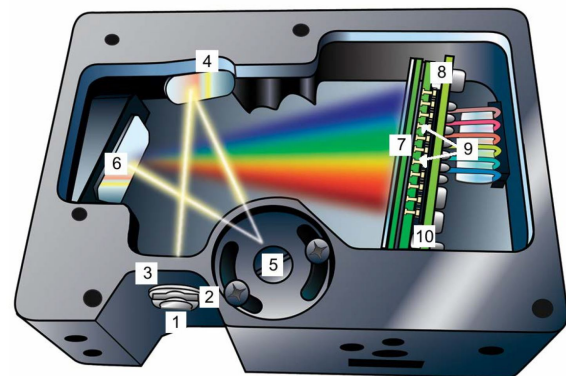


Bei exponentiellem Abfall hat der Wert der Funktion  $f(t)$  gegenüber dem Anfangswert nach der Zeit  $t = \tau$  um den Faktor  $1/e$  abgenommen. Logarithmiert man die Werte der y-Achse (halblogarithmische Auftragung), so erhält man eine Gerade mit der Steigung  $\alpha$ .

Eine geringfügige Abweichung vom rein exponentiellen Verlauf ist mit bloßem Auge kaum zu sehen. In der halblogarithmischen Darstellung erkennt man aber deutlich die Abweichung vom linearen Verlauf, in diesem Beispiel hervorgerufen durch einen konstanten offset.

### 5.4 Das Spektrometer

Das hier benutzte Spektrometer Red Tide USB650 analysiert Licht in einem Wellenlängenbereich von 350 nm – 1000 nm mit einer Auflösung von etwa 2 nm. Es besitzt keine beweglichen Teile, alle optischen Komponenten sind fest montiert und wurden einmal eingestellt und geeicht. Abb. 2 zeigt den inneren Aufbau des Spektrometers. Das zu analysierende Licht wird über einen Lichtleiter (1) und einen Spalt (2) in das Spektrometer geführt. Ein Eintrittsfilter (3) beschränkt den Wellenlängenbereich des eintretenden Lichts auf den Wellenlängenbereich 350 nm – 1000 nm. Ein Hohlspiegel (4) fokussiert das Licht auf ein Gitter (5) mit 600 Linien pro mm. Das Gitter zerlegt durch Beugung das Licht spektral. Die 1. Beugungsordnung dieses Lichts wird von einem weiteren Spiegel (6) über viele kleine Sammellinsen (7) auf einen CCD-Detektor (8) mit 2048 Elementen („Pixel“) abgebildet. Zusätzliche Filter (9,10) dienen der Unterdrückung von Streulicht und Licht aus Beugungen höherer Ordnung. Die Position jedes Pixels des CCD-Detektors entspricht einer bestimmten Wellenlänge und jeder Pixel erzeugt ein elektrisches Signal, das proportional zu der Intensität des von ihm absorbierten Lichts ist. Diese Signale werden digitalisiert und an einen PC übertragen. Allerdings haben sowohl das Gitter als auch der CCD-Detektor abhängig von der Wellenlänge unterschiedliche Empfindlichkeiten. Dies ist einer der Gründe, warum photometrische Messungen immer im „2-Küvetten-Verfahren“ durchgeführt werden. Durch den Bezug auf eine Referenzmessung (Küvette mit reinem Lösungsmittel) ist die eigentliche Messung unabhängig von der Ansprechwahrscheinlichkeit des Spektrometers.



Als Lichtquelle für die Messungen dient eine Wolfram-Halogen-Lampe, die ein kontinuierliches Lichtspektrum im Bereich 360 nm – 2000 nm liefert. Durch Einsatz von Neutral-Filtern kann die Lichtintensität angepasst werden. Die Lichtquelle wird mit einem Lichtleiter mit dem Küvettenhalter verbunden, mit einem weiteren Lichtleiter wird das nicht absorbierte Licht zum Spektrometer geleitet.