Merkzettel zur Fotometrie: Das Wichtigste auf einer Seite CBL

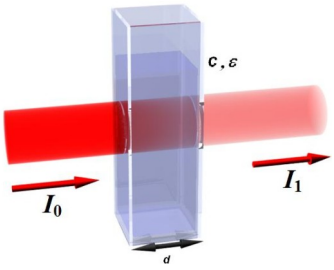
CC BY NC SA
±: laborberufe.de

- **Elektromagnetische Wellen (EM) Zusammenhänge:**

$$E = h \cdot \nu \quad und \quad c = \lambda \cdot \nu$$

E: Energie der EM-Wellen in Joule
h: PLANCKsches Wirkungsquantum: h = $6{,}626 \cdot 10^{-34}$ Js
ν: sprich: „nü“: Frequenz EM-Wellen in s^{-1} (= Hertz, Hz)
c: Lichtgeschwindigkeit c ≈ $3 \cdot 10^{8}$ m/s
λ: sprich: *„lambda“*. Wellenlänge der EM-Wellen in m

⇒ Aus den Formeln folgt: Je kleiner die Wellenlänge, desto energiereicher ist sie! UV-Strahlung: λ < $400 \cdot 10^{-9}$ m (< 400 nm). sichtbarer Bereich (VIS): λ ≈ ca. 400 - ca. 800 nm. λ > 800 nm: Infrarot-Bereich, Radiowellen



Q: wikicommons

$$\underbrace{Transmission}_{\text{Durchlässigkeit}} \; T = \frac{I_1}{I_0}$$

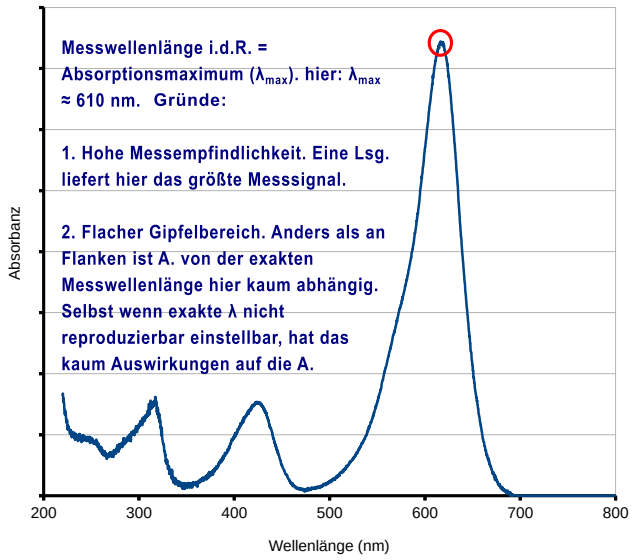
Absorbanz (alte Schule = „Extinktion“):

$$A = -lg \frac{I_0}{I_1}$$

Umrechnung:

$$A = -lg\,T \Leftrightarrow T = 10^{-A}$$

- **UV/VIS-SPEKTRUM**



- **LAMBERT-BEERsches Gesetz**: Absorbanz ist proportional zur Konzentration und Schichtdicke (d) ⇒ Man kann statt dem Gesetz auch stets den Dreisatz nutzen.

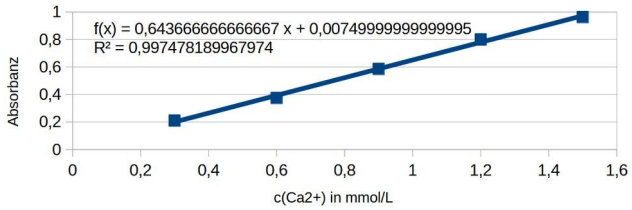
L-B mit β: $\boxed{A = \varepsilon_{spez} \cdot \beta \cdot d}$ ε_{spez} = spezif. Abs.koeffizient

L-B mit c: $\boxed{A = \varepsilon \cdot c \cdot d}$ ε = molarer Abs.koeffizient

Umrechnung Absorptionskoeff. $\boxed{\Rightarrow \varepsilon = \varepsilon_{spez} \cdot M}$

Die Proportionalität gilt nur bei niedrigeren Konzentrationen! Wenn nicht durch ein Kalibrierdiagramm bewiesen ist, dass auch hier eine Linearität gegeben ist, sollten Absorbanzen, die deutlich über 1 liegen vermieden werden. Bei den meisten Stoffen ist die Linearität bis mindestens A = 1,5 gegeben. Wenn man die Kalibrierstrategie frei wählen kann, plant man so, dass die anvisierten Absorbanzen nicht über 1 liegen!

- **Interpretation des L-B-Gesetz am Kalibrierdiagramm**

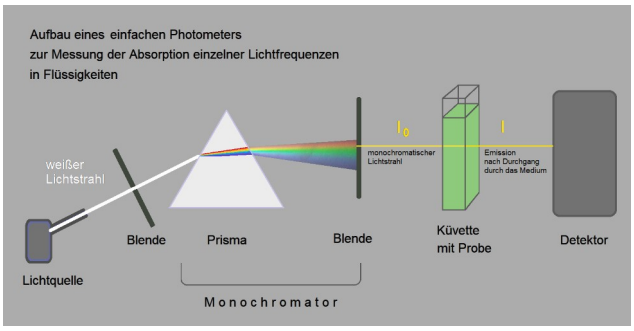


$\boxed{\text{Steigung (m)} = \varepsilon \cdot d}$. Wenn d= 1 cm: $\boxed{m = \varepsilon}$. Dabei Einheit der x-Achse beachten. Bsp. aus der Abbildung ⇒

$$\varepsilon \approx 0{,}643667 \frac{L}{mmol \cdot cm} \quad \Rightarrow \quad \varepsilon \approx 643{,}667 \frac{L}{mol \cdot cm}$$

- Pro mmol/L ist die A. bei d = 1 cm rechnerisch A = 0,64367. Pro mol/L beträgt A bei d = 1 cm rechnerisch A = 643,67

- **Gerätetechnik**



Q: UniBielefeld via wiikicommons, CC

Zweistrahlfotometer erlauben Differenzmessungen, da A. von 2 Küvetten quasi-zeigleich erfasst wird(z.B. Blank ↔ Probe oder *Probe 1* ↔ *Probe 2*). **Diodenarray-Fotometer** messen A bei allen Wellenlängen gleichzeitig ⇒ Aufnahme des gesamten Spektrums in Sekundenbruchteilen. Kein Monochromator / optomechanische Bauteile nötig ⇒ wartungsfreundlich, klein (Schuhkartongröße).

- **Küvetten:** Kunststoffküvetten sind für UV-Messungen nicht geeignet, da sie dort nahezu gesamte Strahlung absorbieren. Spezielle UV-Kunststoff-Küvetten z.T. auch im UV-Bereich geeignet. Lichtstrahl fällt im unteren Drittel durch Küvette ⇒ halb füllen reicht.

- **Leerwert/Blindwert:** Messergebnis, das alle Lösungen/Reagenzien und Küvettenmaterialien enthält, nur nicht den Analyt. Beim Blanken wird das Fotometer so justiert, dass es bei diesem Messergebnis (Blindwert) 0,000 anzeigt. Da man i.d.R. „blankt“, hängt der anschließend gemessene Wert nur noch vom Analyt-Gehaltab.

- **Farbige organische Stoffe** besitzen in der Regel ausgedehntes konjugiertes Doppelbindungssystem. Je länger, desto langwelliger λ_{max}. Aromaten besitzen nur kurzes konjugiertes Doppelbindungssystem ⇒ λ_{max} kurzwellig und im UV-Bereich. Lösung ist farblos.