

Physikalisches Grundpraktikum

Photometrische Analyse



Grundpraktikum Physik: <http://grundpraktikum.physik.uni-saarland.de/>



1. Stoffgebiet

- Ausbreitung elektromagnetischer Wellen
- Optische Spektroskopie
- Absorption
- Lambert-Beersche Gesetz
- Reflexion
- Emissions- und Absorptionsspektren

2. Fragen

1. Was versteht man unter der Stoffmengenkonzentration? Wie hängt sie mit der Molmasse und der Masse zusammen? Überlegen Sie sich, wie man eine Lösung einer gewünschten Konzentration herstellt.
2. Was ist eine gesättigte, eine ungesättigte und eine echte Lösung?
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?
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. Beschreiben Sie den Entfärbungsprozess von Kristallviolettlösung bei Zugabe von Natronlauge.

3. Grundlagen

Bei der Untersuchung von Stoffen sind zwei Fragestellungen wichtig:

- Welche Substanzen sind enthalten? (qualitative Analyse)
- In welcher Konzentration sind sie enthalten? (quantitative Analyse)

Die zahlreichen Analysemethoden kann man in überwiegend chemische (Fällungs-, Färbungsreaktionen, Titrations etc.) und überwiegend physikalische (Absorptions- und Emissionsspektralanalyse, Chromatographie, Massenspektrometrie, Spinresonanzspektroskopie, Mößbauer-Spektrometrie usw.) einteilen, wenngleich eine solche Einteilung keine scharfe Abgrenzung liefert. Dabei ist beispielsweise von Interesse, welche Elemente in einer Verbindung, welche Verbindungen in einer Lösung enthalten sind, oder welche Substanzen bei chemischen Reaktionen entstehen.

In der medizinischen Diagnostik beschränkt man sich meist auf den quantitativen Nachweis von organischen Verbindungen in Lösungen (z.B. Blut). In vielen Fällen eignet sich hierzu die *Absorptionsspektralanalyse*, die nur eine geringe Messzeit beansprucht. Diese Tatsache ist für instabile Lösungen wichtig. Da diese Methode ohne chemische Umwandlungen auskommt, stehen die Messproben für weitere Untersuchungen zur Verfügung. Heutzutage gibt es auf dem Markt spezielle Messgeräte, mit deren Hilfe komplette Messspektren in Bruchteilen von Sekunden aufgezeichnet werden, so dass man auch den Verlauf chemischer Reaktionen schrittweise verfolgen kann.

3.1 Die Spektralanalyse

Der Spektralanalyse liegt die von dem Chemiker Bunsen und dem Physiker Kirchhoff gewonnene Erkenntnis zugrunde, dass jedes chemische Element durch sein Absorptions- und Emissionsspektrum (Atomspektrum) eindeutig charakterisiert ist. Dies gilt nicht in gleicher Allgemeinheit für chemische Verbindungen oder Zusammenlagerungen gleichartiger Atome (Festkörper, Flüssigkeiten), jedoch lassen sich auch viele Verbindungen, Flüssigkeiten und Festkörper durch ihre Spektren analysieren. Grund für diese Einschränkung ist, dass die Spektren umso komplizierter werden, je mehr Atome sich im engen Verband befinden (Moleküle, Festkörper) und sich gegenseitig beeinflussen. Die gegenseitige Beeinflussung benachbarter Atome bewirkt, dass deren Elektronenspektren verändert werden und zusätzliche Absorptions- und Emissionsprozesse entstehen (beim Molekül etwa die Anregung von Schwingungen und Rotationen). An die Stelle der Atomlinien tritt beim isolierten Molekül eine Vielzahl von Liniengruppen (Molekülbanden). Bringt man Moleküle in Lösung, so findet man ähnlich wie bei den Festkörpern breite Absorptionsbereiche, die oft unterbrochen sind durch Bereiche ohne Absorption. Je größer die Zahl der miteinander in Wechselwirkung stehenden Atome ist, desto verwaschener und uncharakteristischer werden die Strukturen ihrer Spektren. Infolge solcher Wechselwirkungen hat z.B. das Spektrum metallischen Natriums keinerlei Ähnlichkeit mehr mit dem des Gases. Atomares Natrium kann durch das Liniendublett im Gelben leicht identifiziert werden. Im gesamten sichtbaren Spektralbereich ist das Spektrum metallischen Natriums dagegen so uncharakteristisch, dass es sich z.B. von dem des metallischen Aluminiums kaum unterscheidet. Auch die Moleküle eines Lösungsmittels stellen eine solche störende Umgebung dar, sodass die Spektren gelöster Atome und Moleküle auch von der chemischen Natur des Lösungsmittels beeinflusst werden. Dies muss bei der Analyse von Spektren gelöster Stoffe beachtet werden.

An sich sind Absorptions- und Emissionsspektren zur Analyse gleich brauchbar; bei Atomen im Gas wird meist letztere angewendet (z.B. Flammenfärbung in der chemischen Analyse). Moleküle untersucht man dagegen meist in Absorption, da sie sich oft bei der für Emission

notwendigen Erwärmung zersetzen. Auch bei flüssigen Lösungen kommt nur die erste Methode in Betracht.

Absorptionsspektren von Lösungen bestehen aus Absorptionsbereichen (Absorptionsbanden) und Bereichen, in denen die Lösung durchsichtig ist. Liegt keine Absorptionsbande im sichtbaren Spektralbereich, so erscheint die Lösung farblos. Dann muss man zur Analyse die im Ultraviolett (UV) und Infrarot (IR) liegenden Absorptionsbereiche ausmessen.

Die Absorptionsspektren von Lösungen setzen sich zusammen aus der Absorption der gelösten Stoffe und der Absorption des Lösungsmittels. Angenehmerweise liegen bei üblichen Lösungsmitteln wie Wasser oder Alkohol, die Eigenabsorptionen weit entfernt vom sichtbaren Spektralbereich im Ultraviolett und Infrarot, so dass sie im Sichtbaren farblos sind. Ist man aber z.B. bei gelösten Substanzen, die im Sichtbaren selbst nicht oder nur uncharakteristisch absorbieren, auf Messungen im UV oder im IR angewiesen, so muss man gesondert eine evtl. Eigenabsorption des Lösungsmittels prüfen. Wir werden darauf im Folgenden näher eingehen.

Mit kommerziellen Absorptionsgeräten (Photometer) kann man heute üblicherweise den Spektralbereich vom nahen Ultraviolett bis zum nahen Infrarot (Wellenlängen von 280 nm bis etwa $1,5 \mu\text{m}$) überstreichen. Zur qualitativen Spektralanalyse muss man also das Absorptionsspektrum messen. Meist genügt dazu bereits ein kleiner Ausschnitt des Spektrums, wenn dieser Absorptionsbereiche enthält. Je größer man jedoch den zu messenden Spektralbereich wählt, je mehr typische Absorptionsstellen man also erfasst, desto sicherer ist die Analyse. Aus der spektralen Lage der Maxima der Absorption ist dann auf die gelöste Substanz zu schließen.

3.2 Das Absorptionsgesetz

Zur quantitativen Analyse eines Stoffes genügt, falls bereits bekannt ist, dass er in der Lösung enthalten ist, die Messung seiner Absorption an einer Stelle im Spektrum, bei der das Lösungsmittel und sonstige gelöste Stoffe nicht absorbieren. Besonders geeignet sind die Maxima von Absorptionsbereichen des zu untersuchenden Stoffes. Die Absorption von Licht in einer ebenen Schicht einer absorbierenden Substanz wird durch das Absorptionsgesetz beschrieben. Die Konzentrationsbestimmung erfolgt mit dem Beerschen Gesetz, das eine Erweiterung des Absorptionsgesetzes darstellt.

Die von einer absorbierenden Substanz durchgelassene Lichtintensität I_{durch} bezogen auf die eindringende Intensität I_{ein} 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 λ des Lichtes ab. Das Absorptionsgesetz lautet:

$$\frac{I_{\text{durch}}}{I_{\text{ein}}} = e^{-K(\lambda)d} \quad (1)$$

Abb. 1 zeigt den Verlauf von Gl. (1) als Funktion der Schichtdicke. Eine wesentliche Erweiterung des Gesetzes auf Lösungen stammt von Beer. Ist c die Konzentration des gelösten Stoffes und ist das Lösungsmittel im betrachteten Spektralbereich durchsichtig, so gilt:

$$K(\lambda) = \alpha(\lambda)c \quad (2)$$

Dabei ist $\alpha(\lambda)$ eine von der Wellenlänge abhängige Konstante, die spezifische Absorptionskonstante. Setzt man diese Formel in Gl. (1) ein, so erhält man das Beersche Gesetz (oft auch Lambert-Beersches Gesetz genannt) für die Transmission T :

$$T = \frac{I_{\text{durch}}}{I_{\text{ein}}} = e^{-\alpha(\lambda)cd} \quad (3)$$

Aus der Messung der Intensitäten I_{durch} und I_{ein} bei einer Wellenlänge λ erhält man nur dann eine eindeutige Aussage über die Konzentration c des gelösten Stoffes, wenn man dessen Konstante α bei dieser Wellenlänge kennt und weiß, dass keine weiteren Bestandteile der Lösung zur Absorption bei dieser Messwellenlänge beitragen.

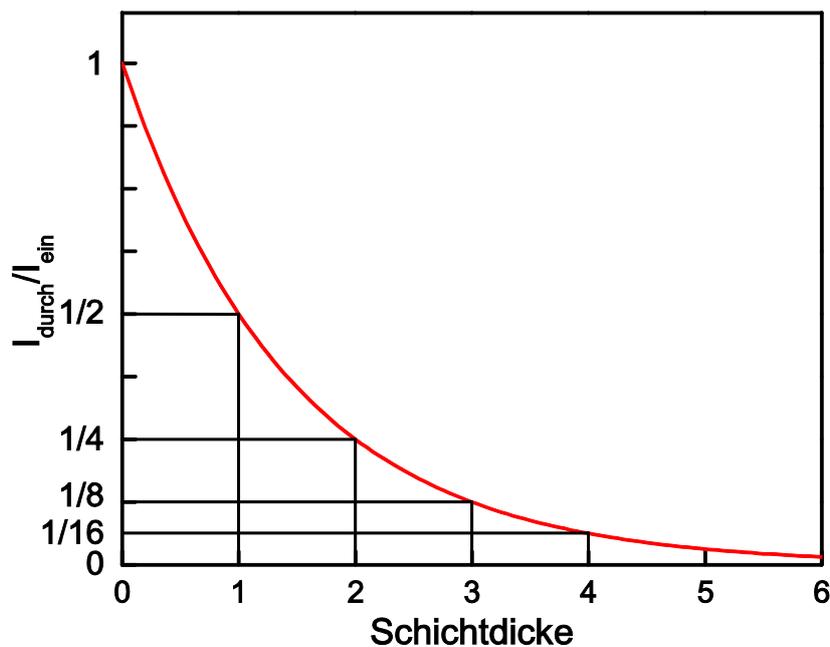


Abb. 1: Die von einer absorbierenden Substanz durchgelassene Lichtintensität I_{durch} bezogen auf die eindringende Intensität I_{ein} nimmt exponentiell mit der Schichtdicke d ab (Gl. (1)).

In der Photometrie wird statt der Transmission T oft die Extinktion E benutzt:

$$E = \log \frac{I_{\text{ein}}}{I_{\text{durch}}} = \log \frac{1}{T} = \alpha(\lambda)cd \log e \quad (4)$$

Führt man den molaren dekadischen Extinktionkoeffizienten $\varepsilon(\lambda) = \alpha(\lambda)\log e$ ein, ist

$$E = \varepsilon(\lambda)cd \quad (5)$$

ε ist die Extinktion E , die eine Lösung mit der Konzentration 1 mol/l bei einer Schichtdicke von 1 cm haben würde.

An die Stelle der expliziten Kenntnis der Konstanten α oder ε kann auch eine Vergleichsmessung an einer gleichartigen Lösung mit bekannter Konzentration c_0 (Normal- oder Eichlösung) treten. Dann verhalten sich die Absorptionskonstanten der Lösungen zueinander wie ihre Konzentrationen:

$$K(\lambda) : K_0(\lambda) = c : c_0 \quad (6)$$

Für Lösungen mit mehreren absorbierenden Bestandteilen setzt sich die Gesamtabsorption aus den Einzelabsorptionen zusammen:

$$K_{\text{gesamt}}(\lambda) = \alpha_1(\lambda)c_1 + \alpha_2(\lambda)c_2 + \dots \quad (7)$$

Für die gesamte Extinktion gilt

$$E_{\text{gesamt}} = E_1 + E_2 + \dots = d(\varepsilon_1c_1 + \varepsilon_2c_2 + \dots) \quad (8)$$

Die Indizes 1,2,... sollen auf die verschiedenen absorbierenden Bestandteile der Lösung hinweisen. Hier ergibt sich nun eine Schwierigkeit: Selbst, wenn man weiß, dass zwei Substanzen mit den spezifischen Absorptionskonstanten $\alpha_1(\lambda)$ und $\alpha_2(\lambda)$ in einer Lösung enthalten sind, so sind Gl. (7) bzw. (8) nicht eindeutig, da sie zwei Variablen enthalten. So kann derselbe Zahlenwert von K_{gesamt} durch völlig unterschiedliche Kombinationen von c_1 und c_2 erhalten werden, wodurch eine eindeutige Konzentrationsbestimmung unmöglich wird.

Der Ausweg ist, bei zwei oder mehreren Wellenlängen zu messen, und zwar, falls dies möglich ist, am besten bei einer Wellenlänge λ_1 , bei der nur die eine, und dann bei einer weiteren Wellenlänge λ_2 , bei der nur die andere Substanz absorbiert. Aber auch, wenn es solche Gebiete im Messbereich des Spektrums nicht gibt, in denen der eine Stoff durchsichtig, der andere aber absorbierend ist, so erhält man aus zwei Messungen bei verschiedenen Wellenlängen im allgemeinen eine eindeutige Aussage über die beiden Einzelkonzentrationen, wenn die spezifischen Absorptionskonstanten bekannt sind. Allerdings ist dann die Auswertung komplizierter, da man ein System von zwei Gleichungen mit zwei Unbekannten lösen muss.

Für die Auswertung ist zudem nötig, dass die Absorptionen der Bestandteile in der gleichen Größenordnung liegen. Dies ist meist nicht der Fall, wenn das Lösungsmittel selbst ein absorbierender Bestandteil ist. Ist die Konzentration des gelösten Stoffes gering, kann seine Absorption so sehr von der des mengenmäßig überwiegenden Lösungsmittels überdeckt werden, dass die Messgenauigkeit nicht ausreicht, den gelösten Stoff überhaupt noch nachzuweisen.

Das Lambert-Beersche Gesetz gilt bei den meisten Lösungen, keineswegs aber allgemein. Eine Voraussetzung für seine Gültigkeit ist, dass keine Wechselwirkung zwischen den gelösten Molekülen auftritt. Bei niedrigen Konzentrationen ist dies wegen des großen mittleren Abstandes der Moleküle sicher der Fall, bei hohen Konzentrationen aber kann die Wechselwirkung der Moleküle untereinander bewirken, dass sich die Konstante $\alpha(\lambda)$ ändert, d.h. selbst von der Konzentration abhängig wird.

3.3 Das Spektrometer (Photometer)

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.

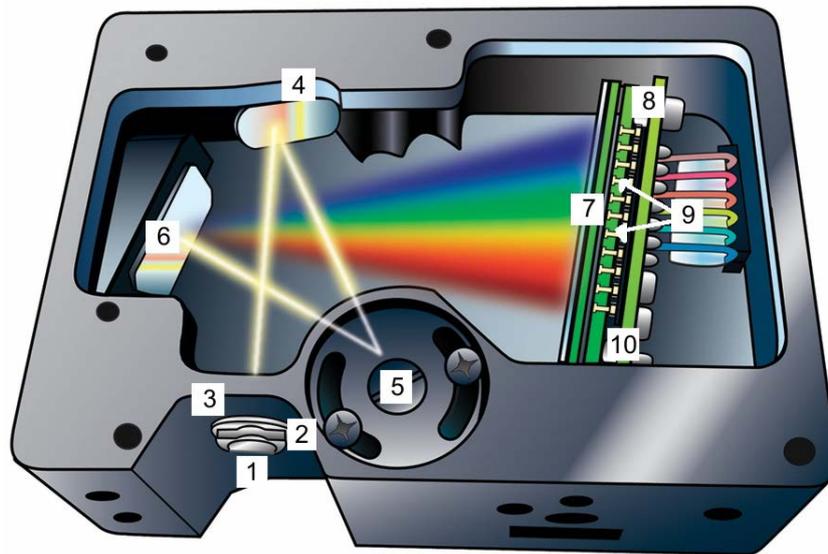


Abb. 2: Aufbau des Spektrometers Red Tide USB650.

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. Abb. 3 zeigt das Lichtspektrum für den Bereich, für den das Spektrometer empfindlich ist.

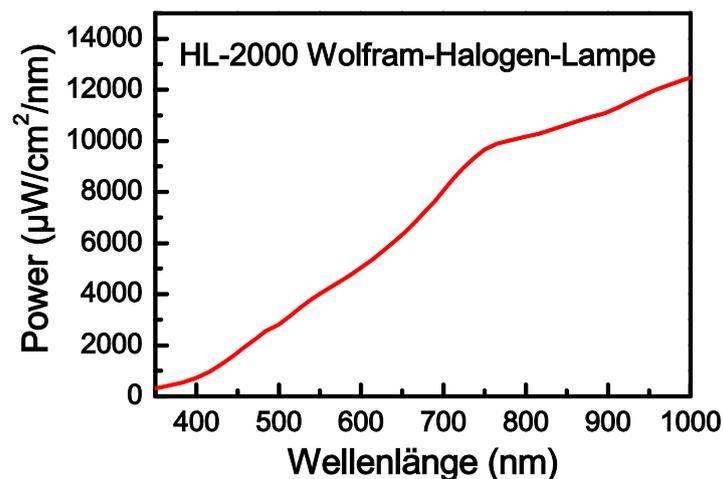


Abb. 3: Spektrum der Wolfram-Halogen-Lampe.

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.

4. Versuche

Hinweis: Eine Anleitung zur Aufnahme der Messungen mit dem Programm *SpectraLab* finden Sie in den Anhängen I und II.

Vorsicht: Vermeiden Sie es, die verwendeten Chemikalien in die Augen zu reiben. Verwenden Sie Handschuhe.

Aufgabe 1

Prüfen Sie experimentell die im Lambert-Beerschen Gesetz geforderte Abhängigkeit der Absorption von der Konzentration c . Dazu wird das Extinktionsspektrum einer Kaliumpermanganatlösung (KMnO_4) aufgenommen. Der Transmissionskoeffizient wird aus der Extinktion berechnet. Bestimmen Sie mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes den Absorptionskoeffizienten einer KMnO_4 Lösung für drei verschiedenen, geeigneten Wellenlängen.

Stellen Sie 200 ml einer 0,001 molaren Kaliumpermanganatlösung (KMnO_4) her (Molmasse: 158,03 g/mol). Von dieser Stammlösung des Farbstoffes stellen Sie folgende Verdünnungen her: 100%, 50%, 25%, 10%, 5% und 2%. Benutzen Sie dazu die Saugpipette.

Vorsicht: Die Küvetten nicht im transparenten Bereich berühren, sondern an den aufgerauten Flächen. Fingerabdrücke verfälschen die Messung.

Theoretische Grundlagen der Durchführung:

In der photometrischen Messung wird die durch die Probe dringende Lichtintensität aufgenommen. Nach Gl. (1) hängt der Messwert von der Intensität des Lichtes vor Durchgang durch die Probe ab. Zusätzlich zur Messung der einfallenden Intensität ist die Reflexion des Lichtes, die an jeder Grenzfläche (Luft/Glas und Glas/Lösung) zwischen zwei verschiedenen durchsichtigen oder absorbierenden Stoffen auftritt, zu berücksichtigen (Abb. 4). Dadurch wird die Intensität I_{durch} zusätzlich geschwächt. Der reflektierte Anteil an einer Grenzfläche ist $R \cdot I$ (R = Reflexionsvermögen der Grenzfläche, I = einfallende Intensität), der durchgelassene Anteil beträgt hinter einer Grenzfläche $(1 - R) \cdot I$.

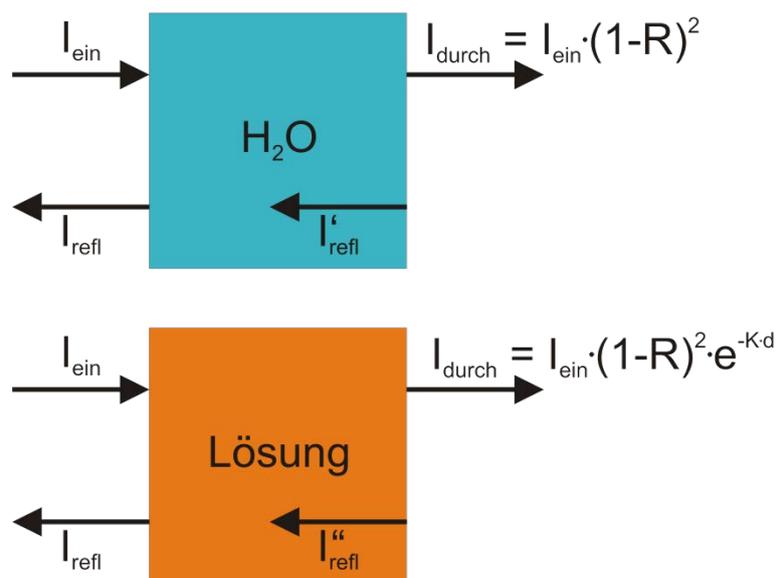


Abb. 4: Zwei-Küvetten-Messverfahren in der photometrischen Analyse.

Das Messsignal I_{durch} ist also nicht nur eine Funktion von K , sondern auch von I_{ein} und dem Reflexionsvermögen der verschiedenen Grenzflächen. Durch das Zwei-Küvetten-Messverfahren wird der Einfluss der unerwünschten Größen eliminiert, und man erhält das unverfälschte Absorptionsspektrum.

Für eine stark verdünnte, wässrige Lösung ist die reflektierte Intensität praktisch gleich der einer mit reinem Lösungsmittel gefüllten Referenzküvette. Wird I_{durch} , die Intensität hinter einer mit Lösungsmittel gefüllten Küvette gemessen, so enthält dieser Wert nahezu dieselben Reflexionsverluste. Division dieses Wertes ($I_{\text{durch}}^{\text{Lösung}}$) durch den Messwert ($I_{\text{durch}}^{\text{Lösungsmittel}}$) ergibt die gesuchte Funktion $e^{-K(\lambda)d}$.

Voraussetzung für diese Methode sind identische optische Eigenschaften der verwendeten Küvetten.

Durchführung:

- Stellen Sie die Stammlösung und die beschriebenen Verdünnungen her. Befüllen Sie jeweils eine Küvette zu ca. $\frac{3}{4}$ mit der Stammlösung sowie den Verdünnungen. Befüllen Sie außerdem eine Küvette mit destilliertem Wasser als Referenz.
- Messen Sie das Absorptionsspektrum von destilliertem Wasser.
- Messen Sie die Absorptionsspektren der Stammlösung und ihrer Verdünnungen.

Auswertung:

- Übertragen Sie die Messwerte der Extinktion samt Wellenlängen nach *Origin*.
- Suchen Sie eine geeignete Wellenlänge heraus und tragen Sie die zugehörigen Werte der Extinktion gegen die Konzentration auf. Mit Hilfe des Graphen können Sie anhand des Lambert-Beerschen Gesetzes die Absorptionskonstante für diese Wellenlänge berechnen.
- Berechnen Sie die Absorptionskonstanten für zwei weitere Wellenlängen.

Aufgabe 2:

Untersuchen Sie die Reaktionskinetik beim Entfärben einer Kristallviolett-Lösung der Konzentration $c = 5 \cdot 10^{-6}$ mol/l mit Natronlauge (0,01 mol/l). Bestimmen Sie die Reaktionskonstante.

Durchführung:

- Stellen Sie 400 ml einer $5 \cdot 10^{-6}$ molaren Kristallviolett-Lösung ($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{ClN}_3$) her. Die molare Masse von Kristallviolett beträgt 407,99 g/mol.
- Nehmen Sie als Referenzmessung das Absorptionsspektrum von destilliertem Wasser auf.
- Das Messprogramm muss vor dem Aufnehmen der Reaktionskinetik kalibriert werden. Nehmen Sie das Absorptionsspektrum der Stammlösung auf und wählen Sie den Wellenlängenbereich aus, in dem die Kinetik untersucht werden soll. Stellen Sie dann durch Verdünnen der Stammlösung Kristallviolett-Lösungen der Konzentrationen $c = 4 \cdot 10^{-6}$ mol/l, $c = 3 \cdot 10^{-6}$ mol/l, $c = 2 \cdot 10^{-6}$ mol/l, $c = 1 \cdot 10^{-6}$ mol/l her und nehmen Sie ihr Absorptionsspektrum auf.
- Geben Sie mit einer Pipette einige Tropfen Natronlauge in eine Küvette mit der Stammlösung und stellen Sie diese in die Messvorrichtung. Die Anfangskonzentration der Lösung sollte zwischen $4 \cdot 10^{-6}$ mol/l und $4,5 \cdot 10^{-6}$ mol/l liegen. Die Kristallviolett-Lösung wird sich innerhalb von etwa 20 Minuten langsam entfärben.
- Nehmen Sie den Konzentrationsverlauf auf und bestimmen Sie daraus die Reaktionskonstante.

Aufgabe 3:

Vergleichen Sie experimentell und rechnerisch die Additivität von Absorptionskonstanten nach Gleichung (6).

Durchführung:

Sie benötigen folgende Lösungen bekannter Konzentration: Kupfersulfatlösung ($c = 0,22$ mol/l), Kristallviolettlösung ($c = 5 \cdot 10^{-6}$ mol/l) und Kaliumpermanganatlösung ($c = 0,001$ mol/l).

- a) Nehmen Sie als Referenz das Absorptionsspektrum von destilliertem Wasser auf.
- b) Nehmen Sie jeweils das Absorptionsspektrum der drei Lösungen auf und bestimmen sie wie in Aufgabe 1 die Absorptionskonstanten der Lösungen mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes.
- c) Stellen Sie eine Mischung (Verhältnis 1:1) aus Kupfersulfat- und Kristallviolettlösung sowie Kupfersulfat- und Kaliumpermanganatlösung her und bestimmen Sie die Absorptionskonstanten der Mischungen. Beachten Sie, dass sich die Konzentrationen ändern, wenn Sie zwei Lösungen mischen.
- d) Vergleichen Sie die experimentell und rechnerisch erhaltenen Ergebnisse.

Anhang I

Durchführung einer Messung zur Bestimmung der Absorptionskonstanten mit *SpectraLab* (das Handbuch zu dem Programm liegt bei dem Versuch aus bzw. kann von der Web-Seite des Praktikums heruntergeladen werden):

A Messung der Referenz:

1. Klicken Sie auf den Reiter „Reference I2 = I-I0“.
2. Setzen Sie die Referenz-Küvette in den Halter ein.
3. Passen Sie die Integrationszeit an:
 - a. Stellen Sie die Integrationszeit auf 100 ms ( und  -Button),
 - b. Probieren Sie verschiedene Kombinationen aus Neutralgläsern und verschiedenen Integrationszeiten aus, um in Transmission maximal etwa 75% Intensität zu erreichen.
4. Warten Sie einige Sekunden, bis sich die Anzeige nur noch schwach verändert.
5. Bilden Sie den Mittelwert (Σ -Button) über etwa 100 Messungen mit der Referenz.
6. Beenden Sie die Messung ( -Button).

B Messung der Probe

1. Klicken Sie auf den Reiter „Extinction E = -log(I1/I2)“.
2. Setzen Sie die Proben-Küvette in den Halter ein.
3. Warten Sie einige Sekunden, bis sich die Anzeige nur noch schwach verändert.
4. Bilden Sie den Mittelwert (Σ -Button) über etwa 50 Messungen mit der Probe.
5. Beenden Sie die Messung ( -Button).

Hinweis: Zum Messen von Probenvariationen (beispielsweise unterschiedliche Konzentrationen) erstellen Sie nach Schritt B5 eine neue Datenspalte ( -Button) und beginnen Sie wieder bei Schritt B2. Stoppen Sie beim Wechsel die Bildung des Mittelwerts.

C Speichern der Daten

- Legen Sie in dem dafür vorgesehenen Verzeichnis ein Unterverzeichnis an, welches Sie nach dem aktuellen Datum benennen.
- Speichern Sie alle Daten ( -Button).
- Benennen Sie ihre Daten nach der vermessenen Substanz.

D Exportieren der Daten nach *Origin*

1. Rechtsklicken Sie die zu exportierende Tabelle und wählen Sie „Copy Table“ aus dem Menü aus.
2. Starten Sie Origin.
3. Klicken Sie auf Feld A-1 im Origin-Worksheet und drücken Sie „STRG+V“ zum Einfügen der Daten.

Anhang II

Durchführung einer Messung zur Bestimmung der Reaktionskinetik mit *SpectraLab*:

A Messung der Referenz:

1. Klicken Sie auf den Reiter „Reference $I_2 = I - I_0$ “.
2. Setzen Sie die Referenz-Küvette in den Halter ein.
3. Passen Sie die Integrationszeit an:
 - a. Stellen Sie die Integrationszeit auf 100 ms (\ominus und \oplus -Button),
 - b. Probieren Sie verschiedene Kombinationen aus Neutralgläsern und verschiedenen Integrationszeiten aus, um in Transmission bei $\lambda = 600$ nm etwa 75% Intensität zu erreichen.
4. Warten Sie einige Sekunden, bis sich die Anzeige nur noch schwach verändert.
5. Bilden Sie den Mittelwert (Σ -Button) über etwa 100 Messungen mit der Referenz.
6. Beenden Sie die Messung (\blacksquare -Button).

B Eichung der Probe

1. Klicken Sie auf den Reiter „Extinction $E = -\log(I_1/I_2)$ “.
2. Setzen Sie die Proben-Küvette in den Halter ein.
3. Warten Sie einige Sekunden, bis sich die Anzeige nur noch schwach verändert.
4. Bilden Sie den Mittelwert (Σ -Button) über etwa 50 Messungen mit der Probe.
5. Beenden Sie die Messung (\blacksquare -Button).
6. Suchen Sie den Bereich des Absorptionsmaximums.
7. Rechtsklicken Sie auf den Extinktions-Graphen und wählen Sie „Define Range for Kinetics“.
8. Markieren Sie einen Bereich von ± 20 nm um die Wellenlänge maximaler Extinktion.
9. Rufen Sie mit einem Linksklick auf das „ E_{xxx} “ in der oberen Leiste das Anzeigefenster für die Extinktion auf.
10. Klicken Sie auf den Reiter „Calibration“.
11. Ziehen Sie den Wert aus der Anzeige mit der Maus in die erste Zeile der Spalte „E“ und tragen Sie in der Spalte „c“ die zugehörige Konzentration ein.
12. Wechseln Sie zum Reiter „Extinction $E = -\log(I_1/I_2)$ “.
13. Erstellen Sie eine neue Spalte (\bullet -Button).

Wiederholen Sie Schritt B2-B5 und B10-B13 für die anderen Konzentrationen, dann fahren Sie mit B14 fort.

14. Wechseln Sie zum Reiter „Calibration“.
15. Rechtsklicken Sie den Graphen in der Kalibrierung und wählen Sie „Fit Function“ \rightarrow „Straight Line through Origin“ aus.
16. Markieren Sie die Messdaten.
17. Lesen Sie den Wert für $E/c = A$ ab und notieren Sie ihn.

C Messung der Reaktionskinetik

1. Klicken Sie auf den Reiter „Kinetics“.
2. Ziehen Sie den Button „c“ aus der oberen Leiste in den Kinetik-Graphen.
3. Setzen Sie die Proben-Küvette in den Halter ein.
4. Vergewissern Sie sich, dass der (\blacksquare -Button) und der (Σ -Button) nicht mehr aktiv sind.
5. Starten Sie die Kinetik-Messung (\blacktriangleright -Button, rechts).
6. Beenden Sie die Kinetik-Messung (\blacksquare -Button, rechts).

D Speichern der Daten

- Legen Sie in dem dafür vorgesehenen Verzeichnis ein Unterverzeichnis an, welches Sie nach dem aktuellen Datum benennen.
- Speichern Sie alle Daten ( -Button).
- Benennen Sie ihre Daten nach der vermessenen Substanz.

E Exportieren der Daten nach *Origin*

1. Rechtsklicken Sie die zu exportierende Tabelle und wählen Sie „Copy Table“ aus dem Menü aus.
2. Starten Sie Origin.
3. Klicken Sie auf Feld A-1 im Origin-Worksheet und drücken Sie „STRG+V“ zum Einfügen der Daten