

**KfK 4863**  
**Juni 1991**

# **Simultanbestimmung von gelösten Ionen mit einem neu entwickelten Sensorarray unter Hinzunahme chemometrischer Methoden**

**P. Judex**  
**Institut für Radiochemie**  
**Projekt Schadstoffbeherrschung in der Umwelt**

**Kernforschungszentrum Karlsruhe**



**KERNFORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE**

**Institut für Radiochemie  
Projekt Schadstoffbeherrschung in der Umwelt**

**KfK 4863**

**Simultanbestimmung von gelösten Ionen  
mit einem neu entwickelten Sensorarray  
unter Hinzunahme chemometrischer Methoden**

**Patricia Judex**

**von der Fakultät für Chemie  
der Universität Karlsruhe (TH)  
genehmigte Dissertation**

**Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH, Karlsruhe**

Als Manuskript vervielfältigt  
Für diesen Bericht behalten wir uns alle Rechte vor

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH  
Postfach 3640, 7500 Karlsruhe 1

ISSN 0303-4003

## Zusammenfassung

Es wurden ein optisch-chemischer Sensor für Aluminium und zwei optisch-chemische Sensoren für Zink entwickelt. Die Sensoren basieren auf der Immobilisierung der Komplexbildner Morin (Aluminium), Calcein (Zink) und Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon (Zink) über ein Brückenmolekül (Silan) auf Glas. Zur Detektion der abhängig von der Metallionkonzentration der Analysenlösung gebildeten Komplexe auf der Sensoroberfläche wurde die Fluoreszenzspektroskopie eingesetzt.

Der Morin - Sensor bestimmte die Aluminium - Konzentration innerhalb von fünf Minuten mit einem Fehler von 3%. Die Bestimmungsgrenze für Aluminium lag bei 0.7 mg/l. Der Meßfehler des Calcein - Sensors und des Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensors lag ebenfalls bei 3%. Zink wurde mit dem Calcein - Sensor ab 0.5 mg/l, mit dem Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor ab 5 mg/l quantifiziert. Die Ansprechzeit betrug im Fall des Calcein - Sensors 2 Minuten, für den Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor 10 Minuten.

Jeder Sensor war querempfindlich gegen andere Metallionen, so daß ein Konzept zur Erzielung der für praktische Anwendungen erforderlichen Selektivität ausgearbeitet werden mußte. Da Sensoren für Durchflußmessungen eingesetzt werden sollen, können das Meßsignal beeinflussende Komponenten der Analysenlösung, insbesondere Metallionen, nicht physikalisch-chemisch abgetrennt werden. Die Selektivität sollte durch Kombination mehrerer Sensoren zu einem Sensorarray mit multivariater Kalibration (partial least squares) erreicht werden.

Die für praktische Applikationen wichtigen Fragestellungen wie das Erkennen falscher Proben im Kalibrationsdatensatz sowie falscher Proben unbekannter Zusammensetzung, driftender Sensoren und die optimale Kombination der Sensoren wurden zunächst anhand von Arraysimulationen überprüft. Mit Hilfe des F - Tests und den leverages der Proben wurden falsche Proben und driftende Sensoren erkannt. Als zusätzliches Kriterium zur Beurteilung der Qualität des Kalibrationsdatensatzes erwiesen sich die t-u-Diagramme als hilfreich.

Der Morin -, der Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - und ein pH - Sensor (Fluorescein) wurden zu einem Sensorarray kombiniert und Aluminium - Zink - Chrom - Mischungen im pH Bereich 4.7 - 5.4 analysiert. Die Ergebnisse der Arraysimulationen konnten mit dem Sensorarray bestätigt werden. Die Bestimmungsfehler des Sensorarrays betrugen für Aluminium 8% und für Zink 10%.

## abstract

### Simultaneous detection of dissolved ions with a sensorarray in combination with chemometrics

One optical sensor for aluminium and two optical sensors for zinc have been developed, based on the immobilisation of morin (aluminium), calcein (zinc) and salicylaldehyde-thiocarbohydrazone (zinc) on silanised controlled porous glass. The immobilised indicators formed complexes with these metal ions, resulting in a change of their optical properties. Fluorescence spectroscopy has been used for the quantitative detection of the metal ion complexes on the surface of the sensors.

The morin-sensor quantified aluminium within 5 minutes and showed a detection limit of 0.7 mg/l. Zinc has been detected with the calcein-sensor in 2 minutes. The detection limit was 0.5 mg/l. The response time of the second zinc-sensor, which consisted of immobilised salicylaldehyde-thiocarbohydrazone, was 10 minutes. It showed a detection limit of 5 mg/l.

Each sensor has been interfered by other metal ions. For practical applications the lack of selectivity had to be overcome. There were two principal solutions. First, the interfering components could be separated by chemical methods like sedimentation, extraction etc. This way would complicate and lengthen the analytical procedure. Therefore it did not seem to be the optimal way to execute flow through measurements with sensors.

The other possibility to eliminate the influence of interfering components was to use multivariate calibration methods like partial least squares. Several sensors had to be combined to a so called sensor array to receive enough information about the analyte for using multivariate calibration methods.

To prevent false results on applying a sensor array, it was necessary to recognize faulty samples and drifting sensors. The capability of the used algorithm to do this has been tested by simulated arrays. Using the F-test and the leverages of the samples, this requirements could be fulfilled. The t-u-plots of the relevant factors have been used additionally to check the quality of the calibration data.

A sensor array has been composed of a morin-sensor, a salicylaldehyde-thiocarbohydrazone-sensor and a pH-sensor (fluoresceine). Samples, containing aluminium, zinc and chromium, with different pH values were analysed. The results of the array simulations could be confirmed with this sensor array. The analytical error was 8% for aluminium and 10% for zinc.

## Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung	1
2.	Grundlagen	5
2.1	Definitionen, Begriffe	5
2.1.1	Selektivität, Spezifität	5
2.1.2	Interferenz, Querempfindlichkeit	5
2.1.3	Empfindlichkeit eines Analysenverfahrens	5
2.1.4	Bestimmungsgrenze	6
2.1.5	Chemische Sensoren	6
2.2	Herstellung von Sensoren	9
2.2.1	Silanisierung von Glas	10
2.2.2	Immobilisierungsreaktionen	12
2.2.2.1	Immobilisierung durch die Thioharnstoffreaktion	12
2.2.2.2	Immobilisierung durch die Friedel-Crafts-Alkylierung	14
2.3	Sensorarray	15
2.4	Grundlagen der multivariaten Kalibration	18
2.5	Der PLS-Algorithmus	25
2.5.1	Kalibration	25
2.5.2	Overfitting und Underfitting	28
2.5.3	Validierung	30
2.5.4	Bestimmung der Konzentrationen (Prediction)	31
2.6	Detektion von Ausreißern	33
2.6.1	Der F-Test	33
2.6.2	"leverage" der Probe	36
2.6.3	Beurteilung von falschen und extremen Proben	36
2.7	Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit	37
3.	Experimente	41
3.1	Fluorimetrische Messungen in Lösung	41
3.1.1	Stammlösungen	41
3.1.2	Durchführung der Messungen	41
3.2	Arraysimulation	43
3.3	Thermogravimetrie	45
3.4	Verbrennungsanalyse	45
3.5	Synthesen	45
3.5.1	Amino-Calcein	45
3.5.2	Amino-Phenylfluoron	46

3.5.3	4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol	46
3.5.4	5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin	46
3.5.5	Bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon	46
3.5.6	Bis-(N-Methyl)-Aminomethyl-Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon	47
3.6	Immobilisierung der Komplexbildner	47
3.6.1	Silanisierung von Glas	47
3.6.1.1	Präparation von (N-Ethylisothiocyanat)-3-Propylamin-CPG	47
3.6.1.2	Präparation von 1,2-Dihydroxy-Ethyl-Propylether-CPG	47
3.6.2	Immobilisierung von Amino-Calcein	48
3.6.3	Immobilisierung von Calcein	48
3.6.4	Immobilisierung von Morin	48
3.6.5	Immobilisierung von Amino-Phenylfluoron	48
3.6.6	Immobilisierung von 5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin	49
3.6.7	Immobilisierung von 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol	49
3.6.8	Immobilisierung von bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon und bis-(N-Methyl)-Aminomethyl-Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon	49
3.6.9	Immobilisierung von Fluorescein	49
3.7	Fluorimetrische Messungen mit Sensoren	50
3.8	Sensorarray	50
4.	Ergebnisse und Diskussion	52
4.1	Erste Auswahl geeigneter Komplexbildner	53
4.1.1	Calcein	53
4.1.2	Phenylfluoron	57
4.1.3	Morin	59
4.1.4	4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol	61
4.1.5	8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin	62
4.1.6	Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon	64
4.1.7	Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon	65
4.2	Simulation von Sensorarrays in Lösung	69
4.2.1	Array für Aluminium, Zink und Kupfer	69
4.2.2	Erweitertes Array für Aluminium, Zink und Kupfer mit chemischer Interferenz	77
4.2.3	Simuliertes Array für Aluminium, Zink und Kupfer mit chemischer Interferenz und Matrixeffekt	82

4.3	Ausreißer in Proben mit unbekannter Zusammensetzung	87
4.4	Optimierung der Meßwertauswahl	93
4.4.1	Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit	94
4.4.2	Optimierung nach minimalem Fehler	97
4.5	Sensoren	99
4.5.1	Silanisierung von Glas	99
4.5.2	Morin - Sensor	101
4.5.3	Calcein - Sensor	104
4.5.4	Bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor	105
4.5.5	4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol - Sensor	107
4.5.6	Immobilisierung von Amino-Phenylfluoron, bis-(N-Methyl)-Methylamin-Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon und 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin	108
4.6	Sensorarray	110
5.	Schlußbetrachtung	118
6.	Anhang	123
6.1	Tabellen	123
6.2	Diagramme	138
6.3	Spektren von synthetisierten Verbindungen	141
	Chemikalienliste	143
6.4	Optimierung der Meßwertauswahl	144
6.5	Abkürzungsverzeichnis	145
7.	Literaturverzeichnis	146

## 1. Einleitung

Die instrumentelle Analytik hat heute einen hohen Entwicklungsstand erreicht. Zur Untersuchung von umweltrelevanten Stoffen sowie zur Überwachung von chemischen Prozessen stehen zahlreiche Verfahren wie z.B. HPLC, Gas- und Ionenchromatographie, Atomabsorptionsspektroskopie, molekulspektroskopische und elektrochemische Methoden zur Verfügung. All diese Methoden verlangen die Probenahme und eine mehr oder weniger aufwendige Probenpräparation. Dies erfordert Zeit und beinhaltet zusätzliche Fehlerquellen. Bei komplexen chemischen Prozessen, die an mehreren Stellen überwacht werden müssen, sowie durch die immer zahlreicher anfallenden Umweltproben entstehen in den Laboratorien Wartezeiten. Die Möglichkeit zur raschen Reaktion auf Anomalien ist nicht gegeben. Weiterhin besteht die Gefahr, daß sich die Proben in der Zwischenzeit chemisch verändern.

Dagegen erlauben Sensoren die direkte Messung vor Ort (in-line - bzw. on-line - Messung). Das Signal der Sensoren wird an eine zentrale Auswertestelle übermittelt und ausgewertet. Auf diese Weise kann beispielsweise ein chemischer Prozeß an allen notwendigen Stellen gleichzeitig überwacht werden. Die Zeit, die bis zum Einleiten entsprechender Maßnahmen verstreicht, wird nur noch durch die Auswertung bestimmt. Im Falle der Überwachung von Abwässern ist im allgemeinen nur das Erkennen von Grenzwertüberschreitungen notwendig. Kostenintensive, mit großer Präzision messende Analysengeräte (z.B. AAS) können durch preisgünstige Sensoren mit geringerer Genauigkeit ersetzt werden, wobei auch hier der Vorteil der kürzeren Analysenzeiten zum Tragen kommt.

Bereits kommerziell erhältlich und vielfach erprobt sind physikalische Sensoren, beispielsweise zur Messung von Druck, Temperatur, Strömung oder zur Füllstandsanzeige. Sind an einem chemischen Prozeß Gase beteiligt, so können den Druck- und Temperaturmessungen unter Hinzunahme thermodynamischer Daten indirekt Informationen über die Zusammensetzung des Reaktionsgemisches entnommen werden.

Vielfach angewandt werden physikalisch-chemische Sensoren zur Prozeßüberwachung /1/. Sie beruhen auf optischen Detektionsmethoden (UV/VIS, NIR, IR) und sind daher im Gegensatz zu den physikalischen Sensoren in der Lage, die chemische Zusammensetzung eines Prozeßstromes zu bestimmen. Die Meßanordnung besteht aus einer Lichtquelle, Lichtleitern, einer Detektionseinheit und einer speziell konstruierten Sonde aus optischem Material. Die Sonde taucht in den Prozeßstrom ein. Lichtleiter übermitteln das Licht von der Lichtquelle zur Sonde und das vom Analyten modifizierte Licht von der Sonde zur Detektionseinheit.

Ein breites Anwendungsgebiet für Sensoren ist die klinische Chemie. Es stehen bisher Sensoren zur Bestimmung von Kohlendioxid /2/, Sauerstoff /2/ und pH Wert /3/ zur Verfügung. Zur Bestimmung des Kohlendioxidgehaltes der Atemluft dient ein miniaturisiertes IR - Spektrometer, welches das Absorptionsspektrum des Kohlendioxids mißt. Der Kohlendioxidgehalt des Blutes wird transcutan gemessen. Hierbei macht man sich das temperaturabhängige Gleichgewicht zwischen gelöstem Gas und Gas über einer Flüssigkeit zu Nutze, indem die Haut erhitzt wird. Das durch die Haut abgegebene Kohlendioxid diffundiert durch eine gaspermeable Membran in den Reaktionsraum mit Bicarbonatpuffer. Die dadurch hervorgerufene Änderung des pH Wertes wird mit einer miniaturisierten Glaselektrode gemessen. Auf eine ähnliche Weise kann der Sauerstoffgehalt des Blutes bestimmt werden, indem ebenfalls der durch die Haut diffundierende Sauerstoff mittels einer Clark - Elektrode erfaßt wird /2/. Eine andere Möglichkeit, den Sauerstoffgehalt des Blutes zu messen, ist die Messung des Hämoglobin - Spektrums durch die Haut.

Biosensoren bestehen aus biologischem Material (z.B. Enzyme, Antikörper, Rezeptoren) und einem Transducer, der die Reaktion des biologischen Materials auf den Analyten in ein Meßsignal verwandelt /4/. Kommerziell vertrieben werden bereits Biosensoren zur Bestimmung von Harnstoff, Glucose, Kohlenhydraten, Lactose, Maltose, Alkohol und Aminosäuren /5/. Insbesondere die Glucose - und Lactose - Sensoren werden zur Metabolitüberwachung in biochemischen Prozessen eingesetzt.

Von den zahlreichen, in Kraftfahrzeugen verwendeten Sensoren sei hier als Beispiel eines keramischen Sensors die Lambda-Sonde erwähnt, die der Steuerung der optimalen Benzin-Luft-Zusammensetzung des Verbrennungsgemisches dient. Die Lambda-Sonde mißt den Sauerstoffgehalt des Verbrennungsgemisches, indem bei angelegter Spannung Sauerstoffionen durch eine Zirkonoxidkeramik diffundieren. Der hierdurch erzeugte Stromfluß ist für kleine Spannungen proportional zur Sauerstoffkonzentration.

Ein ausführlicher Überblick über die Anwendungsbereiche von Sensoren wird von Göpel, Hesse und Zemel /6/ gegeben.

Optisch-chemische Sensoren sind bis heute nur durch Forschungsarbeiten bekannt. Eine breite Anwendung steht noch aus.

Zur Detektion von Chemikalien in flüssigen oder gasförmigen Medien mittels chemischer Sensoren wurden eine Reihe von Meßprinzipien vorgestellt. So können beispielsweise Gase durch Adsorption an ein Polymer, das auf einem Schwingquarz aufgebracht ist, die Schwingungsfrequenz des Quarzes verändern (Surface Acoustic

Wave - Sensor) /7/. Die Frequenzdifferenz wird gemessen und - nach Kalibration des Sensors - auf die Konzentration des Gases zurückgeschlossen.

MOS - Sensoren (Metal Oxide Semiconductor) für Gase bestehen aus einem MOS - Bauelement und Zeolithen, die das Gas adsorbieren, und so eine Änderung der Leitfähigkeit des MOS - Bauteils bewirken /8/.

Weiterhin sind in der Literatur erste Arbeiten zu optisch-chemischen Sensoren bekannt. Als Beispiele seien Sensoren für Aluminium /9/, Uranyl /10/, chlorierte Kohlenwasserstoffe /11/, Ammonium /12/, Stickstoffdioxid /13/ und Blei /14/ genannt.

Die vorliegende Arbeit zeigt einen möglichen Weg auf, wie optisch-chemische Sensoren für ein gegebenes Analysenproblem entwickelt werden können. Ziel war, Sensoren für Aluminium, Zink und Kupfer in wässrigen Lösungen zu entwickeln. Hierzu wurde von bereits bekannten optischen Nachweisverfahren in Lösung (fluorimetrischer Nachweis durch Komplexbildung) ausgegangen. Es wurden geeignete Komplexbildner ausgewählt und auf Glas immobilisiert. Auf diese Weise konnte bereits vorhandenes Wissen genutzt werden, um zu in-line - oder on-line - Messungen geeignete Sensoren zu entwickeln.

Da die verwendeten Nachweisverfahren nicht selektiv waren, und dieses Verhalten auch für die daraus herzustellenden Sensoren erwartet werden mußte, wurde nach einer Möglichkeit zur Kompensation dieses Nachteils gesucht. Die Anwendung von chemometrischen Methoden in Verbindung mit einer Kombination verschiedener Sensoren, einem sogenannten Sensorarray, erschien geeignet. Dieses Konzept zum Erreichen der Selektivität optisch-chemischer Sensoren wurde zunächst anhand simulierter Arrays in Lösung überprüft. Daran schloß sich die Herstellung verschiedener Sensoren an, die zu einem Sensorarray kombiniert, Mischungen von Aluminium, Zink und Kupfer bei verschiedenen vorhandenen Störeinflüssen analysieren sollten.

Kapitel 2 behandelt die theoretischen Grundlagen dieses Typs optisch-chemischer Sensoren bzw. die Auswahlkriterien für verwendbare Komplexbildner, sowie die

Grundlagen einiger in Frage kommender chemometrischer Methoden. In Kapitel 3 ist die Durchführung der Experimente geschildert. Die Ergebnisse und die Diskussion der Ergebnisse sind in Kapitel 4 aufgeführt. In der Schlußbetrachtung (Kap. 5) werden die Ergebnisse im Hinblick auf spätere mögliche Anwendungen der optisch-chemischen Sensoren bzw. eines Sensorarrays beurteilt.

## **2. Grundlagen**

### **2.1 Definitionen, Begriffe**

#### **2.1.1 Selektivität, Spezifität**

Die Begriffe Selektivität und Spezifität wurden von Kaiser /15/ zunächst qualitativ definiert. Sie charakterisieren ein Analysenverfahren.

**Volle Selektivität:** Alle Komponenten einer Analysenlösung, für die das Verfahren selektiv ist, können mit dem Analysenverfahren ungestört nebeneinander bestimmt werden.

**Volle Spezifität:** Das Analysenverfahren spricht nur auf eine Komponente an, die ungestört bestimmt werden kann.

#### **2.1.2 Interferenz, Querempfindlichkeit**

Gemäß der IUPAC - Definition verursacht eine Interferenz einen systematischen Fehler bei der Bestimmung der Analytkonzentration.

Interferenzen können sowohl physikalischer Natur (Druck, Temperatur, Ionenstärke der Lösung) als auch chemischer Natur sein. Im letzteren Falle spricht man von der Querempfindlichkeit des Analysenverfahrens gegen diese chemischen Substanzen.

#### **2.1.3 Empfindlichkeit H eines Analysenverfahrens**

Die Empfindlichkeit H beschreibt die Abhängigkeit der Meßgröße von der Konzentration der zu bestimmenden Substanz. Mathematisch läßt sie sich bei univariater Kalibration, d.h. bei Eichung für nur ein Element, durch die Steigung der Eichkurve ausdrücken. Im dynamischen Bereich der Eichkurven ist sie konstant.

#### 2.1.4 Bestimmungsgrenze

Die Bestimmungsgrenze ist die kleinst mögliche sicher zu bestimmende Konzentration des Analyten unter den vorgegebenen Bedingungen und stellt somit ein Maß für die Leistungsfähigkeit des Analysenverfahrens dar. Es existieren verschiedene Definitionen für die Bestimmungsgrenze eines Analysenverfahrens, die die Standardabweichung des Blindwertes als maßgebliche Größe zur Berechnung des "Vertrauensbereiches" /16/ verwenden. Eine Angabe der Bestimmungsgrenze ist deshalb nur sinnvoll, wenn gleichzeitig die verwendete Definition angegeben wird.

In dieser Arbeit wird zur Berechnung der Bestimmungsgrenze die Standardabweichung des Blindwertes entsprechend der folgenden Formel herangezogen:

$$C_{\min} = F(I_{\min})$$

$$I_{\min} = I_B + 3 \cdot s(I_B)$$

$C_{\min}$  : Bestimmungsgrenze

$I_{\min}$  : Meßwert für die Bestimmungsgrenze

$F(I)$  : Eichfunktion des Verfahrens

$I_B$  : Blindwert der Meßgröße

$s(I_B)$  : Standardabweichung des Blindwertes

#### 2.1.5 Chemische Sensoren

Chemische Sensoren sind Meßvorrichtungen für nicht direkt meßbare Größen, wie z.B. Stoffkonzentrationen. Die nicht direkt meßbare Größe wird von dem chemischen Sensor in eine meßbare Größe, wie z.B. Frequenz, Strom oder Intensitätsänderungen von Licht umgewandelt.

Die chemischen Sensoren werden nach den ihnen zugrunde liegenden Meßprinzipien klassifiziert. In Tabelle 1 sind exemplarisch einige Beispiele genannt. Da in dieser Arbeit ausschließlich Optroden behandelt werden, ist im folgenden unter dem Begriff Sensor Optrode zu verstehen.

Ein Sensor besteht aus einer chemisch sensitiven Schicht, einem sogenannten Transducerelement und einer Detektionseinheit. Die sensitive Schicht wechselwirkt mit dem Analyten, wodurch eine spektroskopierbare Spezies entsteht. Die spektrale Änderung, hervorgerufen durch die neu gebildete Spezies, hängt bei konstanten Meßbedingungen (Temperatur, pH ) nur von der Analytkonzentration ab. Das Transducerelement stellt die Verbindung zwischen sensitiver Schicht und Detek-

tionseinheit her. Der Sensor "übersetzt" somit die Stoffkonzentration in eine meßbare Größe wie Lichtintensität.

Die Gestaltung des Transducerelementes hängt von der Meßgröße ab (Tab. 1).

Tab. 1 Klassifizierung von chemischen Sensoren

chemischer Sensor	sensitive Schicht / Wechselwirkung	Meßgröße	Transducer	Medium
surface acoustic wave	Polymer/Adsorption	Frequenz	Piezokristall	gasförmig
Optrode	Polymer o. Glas mit Reagenz/Verbindungs-bildung	Fluoreszenz Absorption Reflexion	Lichtleiter	flüssig
ISFET, ChemFET	Polymer/Transport in Membran (Ionophor)	Potential	Feldeffekt-transistor	flüssig
ionenselektive Elektrode	Membran/Transport in Membran (Ionophor)	Potential	Elektrode	flüssig

Sensoren sollten folgende Anforderungen erfüllen:

- vollständige Reversibilität
- kurze Ansprechzeiten (einige Minuten)
- Selektivität
- genügend großer dynamischer Bereich
- Standzeit über mehrere Tage bis Wochen.

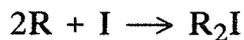
Die Reversibilität und die Selektivität sind in der Regel durch die Nachweisreaktion, d.h. durch die Wahl eines geeigneten Reagenz gegeben.

Das Reagenz R bildet mit dem Analyten A eine Verbindung RA, deren spektrale Eigenschaften die optische Detektion des Analyten ermöglicht. Diese Verbindung muß abhängig von der Analytkonzentration entstehen und zerfallen. Die Gleichgewichtskonstante K bestimmt entsprechend dem Massenwirkungsgesetz (Gl. 1) den Grad der Erfassung des Analyten bzw. in welchem Maße die Verbindung wieder zerfällt.

$$(1) \quad K = \frac{[RA]^v}{[R]^r \cdot [A]^a} \quad rR + aA \rightleftharpoons vRA$$

Im Hinblick auf das Erreichen niedriger Bestimmungsgrenzen ist eine möglichst große Gleichgewichtskonstante vorteilhaft. Sie darf jedoch nicht zu groß sein, damit die **Reversibilität** noch gewährleistet ist.

Die **Selektivität** des Sensors für den Analyten ist mindestens gleich derjenigen des Reagenz in Lösung. Eine verbesserte Selektivität nach Immobilisieren des Reagenz ist jedoch denkbar, wenn die Stöchiometrien der Verbindungen zwischen Reagenz R - Analyt A und Reagenz R - interferierende Substanz I verschieden sind. Für unterschiedliche Stöchiometrien ergeben sich verschieden große sterische Hinderungen, wenn die Reaktionen an einer festen Grenzfläche stattfinden:



Während sich in Lösung beide Verbindungen entsprechend ihrer Gleichgewichtskonstanten bilden können, ist die Bildung des voluminöseren  $R_2I$  an der festen Grenzfläche des Sensors behindert.

Die **Standzeit** eines Sensors wird durch die Art der Immobilisierung des Reagenz sowie die chemische Beständigkeit von Reagenz und Trägermaterial nach oben begrenzt. Das Reagenz kann entweder auf dem Trägermaterial direkt physisorbiert bzw. chemisorbiert werden oder in eine Membran eingebracht werden, die auf dem Trägermaterial haftet. Bei Immobilisierung auf dem Trägermaterial ist das Reagenz in ständigem Kontakt zur Analysenlösung. Die Chemisorption gewährleistet eine stabile Haftung. Sie ist, wenn möglich, der Physisorption vorzuziehen.

Die **Ansprechzeit** wird durch die Kinetik der Nachweisreaktion, die Beschaffenheit der Sensoroberfläche und Diffusionsvorgänge zur Sensoroberfläche und gegebenenfalls in die Poren der Sensoroberfläche beeinflusst.

Der **dynamische Bereich** eines Sensors wird von der analytisch wirksamen Oberflächenkonzentration des Reagenz bestimmt. Eine Einflußnahme auf die Oberflächenkonzentration des Reagenz über die Immobilisierungsreaktion ist im Hinblick auf die verschiedenen Konzentrationsbereiche der praktischen Anwendungen vorteilhaft.

Die **Bestimmungsgrenze** des chemischen Sensors soll unterhalb des vorgegebenen Grenzwertes des zu detektierenden Analyten liegen. Sie wird durch die Gleichgewichtskonstante der Reaktion an der Sensoroberfläche sowie der optischen Detektionsmethode bestimmt. Im allgemeinen ist die Fluorimetrie empfindlicher als die Absorption.

Aus den bisherigen Ausführungen folgt, daß die Eigenschaften eines Sensors im wesentlichen durch die Wahl der Nachweisreaktion, des Trägermaterials und der optischen Detektionsmethode festgelegt werden.

Es ergeben sich folgende Auswahlkriterien für die Nachweisreaktion bzw. für das Reagenz:

- große Gleichgewichtskonstante für den Analyten
- möglichst wenig Reaktionsmöglichkeiten für andere Substanzen bzw. kleine Gleichgewichtskonstanten für deren Verbindungsbildung
- große Geschwindigkeitskonstanten
- 1:1 - Stöchiometrie
- große molare Absorptionskoeffizienten bzw. Fluoreszenzquantenausbeuten.

## 2.2 Herstellung der Sensoren

In der vorliegenden Arbeit werden Komplexbildner als Nachweisreagenzien für Metallionen gewählt. Als optische Detektionsmethode dient die Fluorimetrie.

Die Standzeit des Sensors soll durch das Immobilisieren des Komplexbildners mittels Chemisorption günstig beeinflußt werden. Weiterhin soll das Trägermaterial mindestens die gleiche chemische Beständigkeit wie ein Lichtleiter aufweisen. Dies legt die Wahl von Glas als Trägermaterial nahe.

Ein möglicher Weg zur Herstellung von Sensoren ist somit die Immobilisierung von Fluoreszenzkomplexbildnern über eine chemische Bindung auf Glas.

Glas bietet auf der Oberfläche nur Silanolgruppen zur Anbindung von Komplexbildnern. Damit ist zunächst eine chemische Umsetzung mit dem Komplexbildner nicht in ausreichendem Maße möglich. Die Glasoberfläche muß chemisch modifiziert werden. Dies ist beispielsweise durch Silanisierung erreichbar.

### 2.2.1 Silanisierung von Glas

Die Silanisierung dient der Bereitstellung geeigneter funktioneller Gruppen auf einer Glasoberfläche. Hierzu wird z.B. ein organisches Trialkoxysilan mit den Silanolgruppen des Glases umgesetzt. Der organische Rest besteht zweckmäßigerweise aus einer aliphatischen Kohlenwasserstoff - Kette mit einer funktionellen Gruppe. Das Reagenz wird an dieser grenzflächenmodifizierten Glasoberfläche chemisorbiert. Der Alkylrest dient zusätzlich als Spacermolekül, das den daran gebundenen Komplexbildner weit in die Lösung ragen läßt und somit die sterische Hinderung bei der Komplexierung des Metallions verringert.

Die Silanisierung von Glas bietet neben der notwendigen Modifizierung somit zwei Vorteile, eine ausreichende Hydrolysebeständigkeit des Trägermaterials und - bedingt durch das Spacermolekül Silan - eine lösungsähnliche Immobilisierung des Komplexbildners.

Es wird eine chemische Bindung zwischen den Silanolgruppen und dem Silan angestrebt. Da polymolekulare Wasser - Adsorbatschichten die Kondensation zwischen den Silanolgruppen des Glases und des Silans verhindern, muß zur Silanisierung eine möglichst wasserfreie Glasoberfläche vorhanden sein. Andererseits ist eine dichte Belegung mit Hydroxygruppen erforderlich, um eine ausreichende Oberflächenkonzentration an Silan zu erhalten. Je nach Grad der Trocknung des Glases tritt als unerwünschte Nebenreaktion bei der Verdampfung des adsorbierten Wassers die Kondensation von auf der Glasoberfläche benachbarten Silanolgruppen ein. Die entstehenden Si-O-Si-Bindungen sind nur schwer wieder spaltbar /17/ und deshalb der Silanisierung nicht mehr zugänglich; eine optimale Oberflächenkonzentration des Silans wird nicht erreicht.

Die Durchführung der Silanisierung ist nach Bascom und Timmons /18/ bei einer monomolekularen Bedeckung der Glasoberfläche mit Wasser optimal, da dann die unter kristallographischen Gesichtspunkten maximal mögliche Zahl an Hydroxygruppen auf der Glasoberfläche vorhanden ist. Kämpf und Kohlschütter /19/ berechneten unter Annahme einer Cristobalit - Struktur den geometrischen Platzbedarf einer Silanolgruppe mit  $20 \text{ \AA}^2$ . Experimentell wird nur etwa die Hälfte gefunden /20/. Eine mögliche Erklärung bietet der Boratgehalt des Glases. Borat reichert sich an der Oberfläche an und verringert so die Zahl an Silanolgruppen /22/.

Die Silanisierung muß somit in einem wasserfreien Lösungsmittel mit schonend vorgetrocknetem Glas durchgeführt werden.

Den Mechanismus der Silanisierung stellt man sich wie folgt vor :

Zunächst erfolgt eine Adsorption des Trialkoxysilans an der Glasoberfläche /21/. Die Reaktionstemperatur wird entsprechend dem Siedepunkt des Alkohols gewählt, so daß noch während der Reaktion zumindest eine teilweise Kondensation von Silanolgruppen und Alkoxygruppen unter Abspaltung des Alkohols erfolgt. Die monomolekulare Wasser - Adsorbatschicht auf dem Glas wird dabei teilweise zur (noch unvollständigen) Hydrolyse des Trialkoxysilans zum Trihydroxysilan verbraucht, welches die eigentliche Kondensationsreaktion eingeht. Durch thermische Nachbehandlung wird die Kondensationsreaktion vervollständigt.

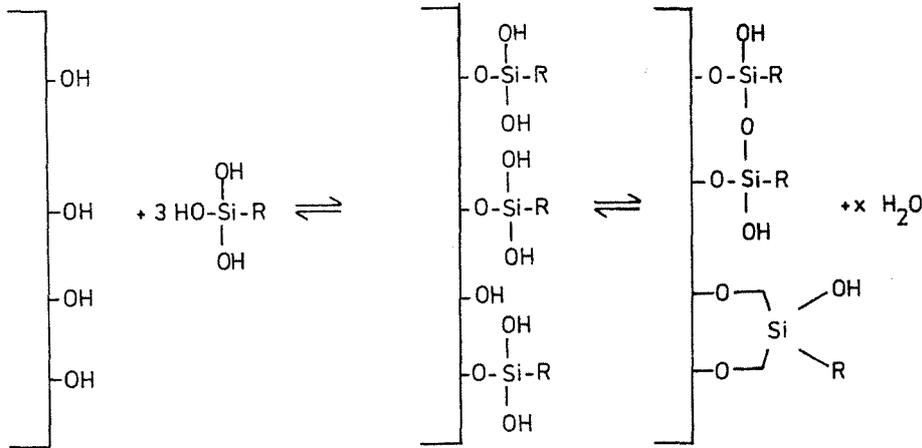


Abb. 1: Mechanismus der Silanisierungsreaktion

Nach Yang und Gilpin /23/ kondensieren selbst bei Trialkoxysilanen nur jeweils eine Alkoxy- bzw. Hydroxygruppe mit einer Glas - Silanolgruppe. Die verbleibenden Silan - Alkoxygruppen können mit weiterem Silan reagieren und so einen Polymerfilm auf der Glasoberfläche ausbilden, so daß die Glasoberfläche vor Hydrolyse geschützt und dadurch eine festere Verankerung des organischen Restes bzw. des Komplexbildners erreicht wird.

### 2.2.2 Immobilisierungsreaktionen

Die eigentliche Immobilisierung von Komplexbildnern auf dem durch Silanisierung modifizierten Glas stellt eine Reaktion zwischen zwei organischen Molekülen, dem organischen Rest des Silans und dem Reagenz, dar.

Primär gelten für die Wahl und Durchführung der Immobilisierungsreaktion die gleichen Überlegungen wie bei der Reaktion in Lösung. Eine Einschränkung besteht insofern, als die Reaktion an einer Festkörperoberfläche durchgeführt werden muß und sich so zusätzliche sterische Hinderungen ergeben.

Die Vielzahl von existierenden funktionellen Gruppen an kommerziell verfügbaren Silanen ermöglicht eine breite Auswahl an Immobilisierungsreaktionen, so daß zu erwarten ist, alle geeigneten Komplexbildner über entsprechende Silane an eine Glasoberfläche chemisorbieren zu können. Die hierbei neu entstehende chemische Bindung zwischen Komplexbildner und Silan soll im Hinblick auf die angestrebte Standzeit zumindest die gleiche chemische Beständigkeit wie der Lichtleiter und das Trägermaterial aufweisen. Als mögliche Reaktionen kommen unter Berücksichtigung der aufgezählten Einschränkungen die

- Thioharnstoffbildung,
- Friedel - Crafts - Reaktionen,
- Addition an eine Doppelbindung
- Peptidbildung

in Frage. Diese Reaktionen und ihre Durchführung sind weitgehend in der Literatur beschrieben, so daß sich die Auswahl der Immobilisierungsreaktion auf grundsätzlichen Überlegungen zu Löslichkeiten der Komplexbildner, Katalysatoren bzw. Geometrien gründet.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Thioharnstoffreaktion und die Friedel - Crafts - Alkylierung zur Immobilisierung von Komplexbildnern auf silanisiertes Glas verwendet.

#### 2.2.2.1 Immobilisierung durch die Thioharnstoffreaktion

Die Thioharnstoffreaktion beruht auf einem nucleophilen Angriff eines Amins auf das  $sp$  - hybridisierte C-Atom eines Isothiocyanats. Aufgrund einfacher

Reaktivitätsbetrachtungen erscheint es vorteilhafter zu sein, wenn am nucleophilen Agens (Amin) ein +I/+M- Substituent und am Isothiocyanat ein -I/-M- Substituent sitzt. Die Alkylkette des Silans ist ein +I-Substituent, der zumeist aromatische Grundkörper des Komplexbildners ist ein +M-Substituent. Hieraus folgt, daß die ansonsten angestellten Überlegungen zur Reaktivität der zur Thioharnstoffbildung eingesetzten Edukte außer acht gelassen werden können.

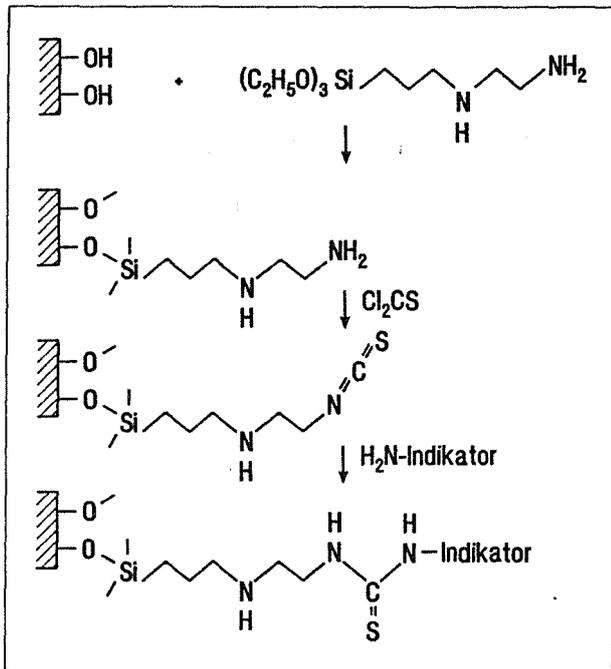


Abb. 2: Schema der Immobilisierung durch die Thioharnstoffreaktion

Silane mit Alkylaminen als organische Reste sind kommerziell verfügbar, jedoch keine mit Alkylisothiocyanaten. Das Isothiocyanat kann jedoch dargestellt werden durch Umsetzen des Alkylaminsilans auf dem Glas mit Thiophosgen (Abb. 2) /24/.

Die Komplexbildner verfügen in der Regel weder über eine Aminogruppe noch über einen Isothiocyanat - Substituenten und müssen deshalb chemisch modifiziert oder neu synthetisiert werden, um in einer zur Reaktion geeigneten Form vorzuliegen. Das Alkylisothiocyanat auf der Glasoberfläche und der Komplexbildner werden dann gemäß dem Reaktionsschema in Abb. 2 zu dem Thioharnstoffderivat umgesetzt.

Zur Immobilisierung von Komplexbildnern über die Thioharnstoffreaktion sind folgende Schritte durchzuführen:

1. Silanisierung des Glases mit einem Alkylaminsilan
2. Darstellung des Alkylisothiocyanats

3. Synthese des Komplexbildners mit einer Aminogruppe

4. Immobilisierung des Komplexbildners durch die Thioharnstoffreaktion.

### 2.2.2.2 Immobilisierung durch die Friedel - Crafts - Alkylierung

Die Friedel - Crafts - Alkylierung ist nur für reaktive Aromaten mit +I/ +M - Substituenten durchführbar. Das angreifende Agens kann entweder ein Alkylhalogenid, Olefin, Ether bzw. Epoxid oder ein Alkohol sein.

Zur Immobilisierung eines Komplexbildners über eine Friedel - Crafts-Alkylierung wird das Glas mit einem Silan, dessen organischer Rest zu einer der o.g. Stoffklassen gehört, silanisiert und mit dem Komplexbildner in Gegenwart eines geeigneten Katalysators umgesetzt.

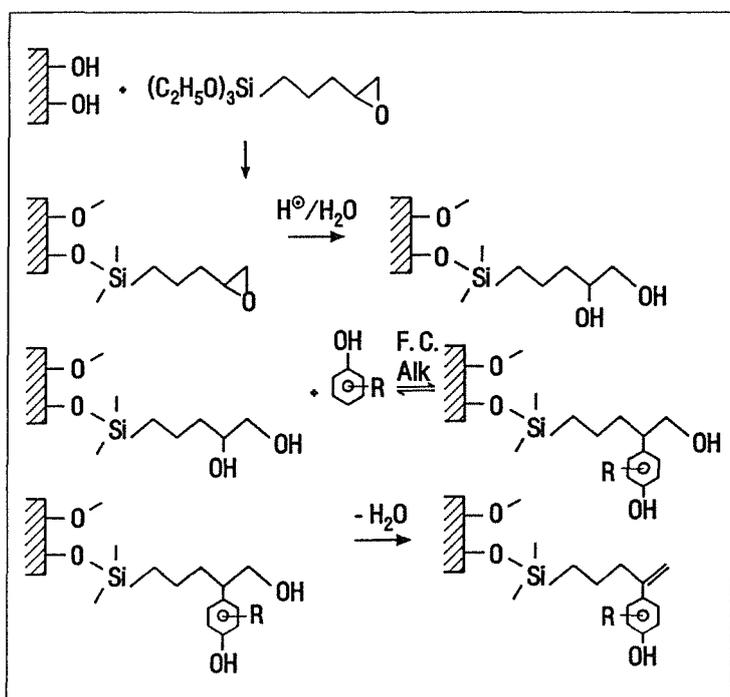


Abb. 3: Schema der Immobilisierung durch die Friedel - Crafts-Alkylierung

Die Friedel - Crafts - Alkylierung ist eine der wenigen reversiblen organischen Reaktionen. Dies läßt sie zunächst zur stabilen Immobilisierung von Komplexbildnern ungeeignet erscheinen, da die Rückreaktion die Ablösung des Nachweisreagenz vom Trägermaterial bedeuten würde. Dies würde die Standzeit des Sensors erheblich

verkürzen. Die unerwünschte Rückreaktion kann jedoch durch eine Folgereaktion nach dem Reaktionsschema in Abb. 3 vermieden werden.

Als Silan wird ein Epoxid - Silan eingesetzt, welches zunächst zum Diol hydrolisiert wird. Nach erfolgter Friedel - Crafts - Reaktion wird das Gleichgewicht durch Abspalten von Wasser und Reaktion zum Olefin auf die Produktseite verschoben. Als Katalysator wird konzentrierte Schwefelsäure eingesetzt, um die Abspaltung von Wasser zu begünstigen.

Die Verwendung von Epoxiden bzw. Alkoholen als Friedel - Crafts - Agenzien erweist sich als vorteilhaft, da zur Reaktion Protonsäuren als Katalysatoren eingesetzt werden können. Im Gegensatz dazu bilden die üblicherweise eingesetzten Friedel - Crafts-Katalysatoren mit den Agenzien voluminöse Komplexe. Die sich hieraus ergebende sterische Hinderung würde sich beim Einsatz von modifiziertem Glas nachteilig auswirken.

### 2.3 Sensorarray

Das Funktionsprinzip der Sensoren beruht, betrachtet man die Herstellung, auf Nachweisreaktionen in Lösung. Wie in Kapitel 2.2.1 bereits ausgeführt, wird die Selektivität bzw. die Spezifität eines Sensors im wesentlichen von der Wahl der Nachweisreaktion bestimmt. Deshalb ist eine selektive oder gar spezifische Nachweisreaktion für den Analyten anzustreben. Dies ist, insbesondere bei der fluorimetrischen Detektion, die eine hohe Beeinflußbarkeit durch eine Vielzahl von Ionen aufweist, nicht möglich, so daß sich je nach Zusammensetzung der Analysenlösung unterschiedliche Störungseinflüsse bei der Bestimmung des gewünschten Analyten ergeben.

Beispielsweise können diamagnetische Ionen fluoreszierende Komplexe mit dem Reagenz des Sensors bilden. Die resultierende Erhöhung des Meßsignals täuscht eine höhere Konzentration des Analyten vor. Dagegen verringern paramagnetische Ionen das Meßsignal durch Ausbildung von nichtfluoreszierenden Komplexen (statisches Quenching) oder durch strahlungslose Relaxation des angeregten elektronischen Zustandes (dynamisches Quenching).

Die dritte Störmöglichkeit ist der sogenannte Matrixeffekt. So kann z.B. durch die Anwesenheit von anderen Komplexbildnern, wie Phosphaten, das Meßsignal beeinträchtigt werden.

Probleme dieser Art treten bei allen analytischen Verfahren auf. Deshalb werden die Analysenverfahren speziell für bestimmte Anwendungsbereiche entwickelt. Sind die Interferenzen bekannt, wird ihr Einfluß eliminiert durch Ausfällen einer schwerlöslichen Verbindung der interferierenden Substanz (z.B.  $\text{Cl}^-$  als  $\text{AgCl}$ ), durch Maskieren (z.B.  $\text{Fe}^{3+}$  als  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ), oder durch Extraktion des Komplexes der zu messenden Substanz in ein organisches Lösungsmittel (z.B.  $\text{NO}_3^-$  als  $\text{Cu}^{2+}$ -Kuproin- $\text{NO}_3^-$ -Komplex in Chloroform /25/).

All diese Methoden sind zeit- und kostenintensiv und bergen zusätzliche Fehlerquellen. Zudem sind solche Analysenverfahren nicht für in-line- oder on-line- Messungen, wie sie für die direkte Prozeßüberwachung vorteilhaft sind, einsetzbar.

Dagegen erlaubt die Anwendung chemometrischer Methoden die "mathematische Entfernung" von Interferenzen, wodurch die physikalisch-chemische Beseitigung derselben umgangen werden kann.

Bei univariater Kalibration wird die Eichkurve erstellt, indem nur die Konzentration der interessierenden Komponente variiert wird. Bei unberücksichtigter Anwesenheit von Interferenzen wird das Meßsignal und somit auch die Konzentrationsbestimmung verfälscht (Abb. 4).

Abb. 4a zeigt eine ohne Störungen ermittelte Eichkurve. In Abb. 4b ist die Wirkung von interferierenden Substanzen auf diese Eichkurve dargestellt. Die mit Störungen ermittelte Eichkurve (Abb. 4b) wird entlang der Ordinate verschoben, was zu große Konzentrationen des Analyten vortäuscht. Matrixeffekte wie z.B. pH Wert Schwankungen verursachen eine Änderung der Steigung der Eichkurve. Abb. 4c zeigt den Einfluß von gleichzeitig vorhandenen Interferenzen und Matrixeffekten auf die Eichkurve.

Bei multivariater Kalibration werden diese Effekte dagegen berücksichtigt. Geeicht wird durch Variation der Konzentrationen aller vorhandenen Komponenten und Interferenzen in der Analysenlösung. Zur Auswertung sind verschiedene chemometrische Methoden bekannt, die in Kapitel 2.4 näher ausgeführt werden.

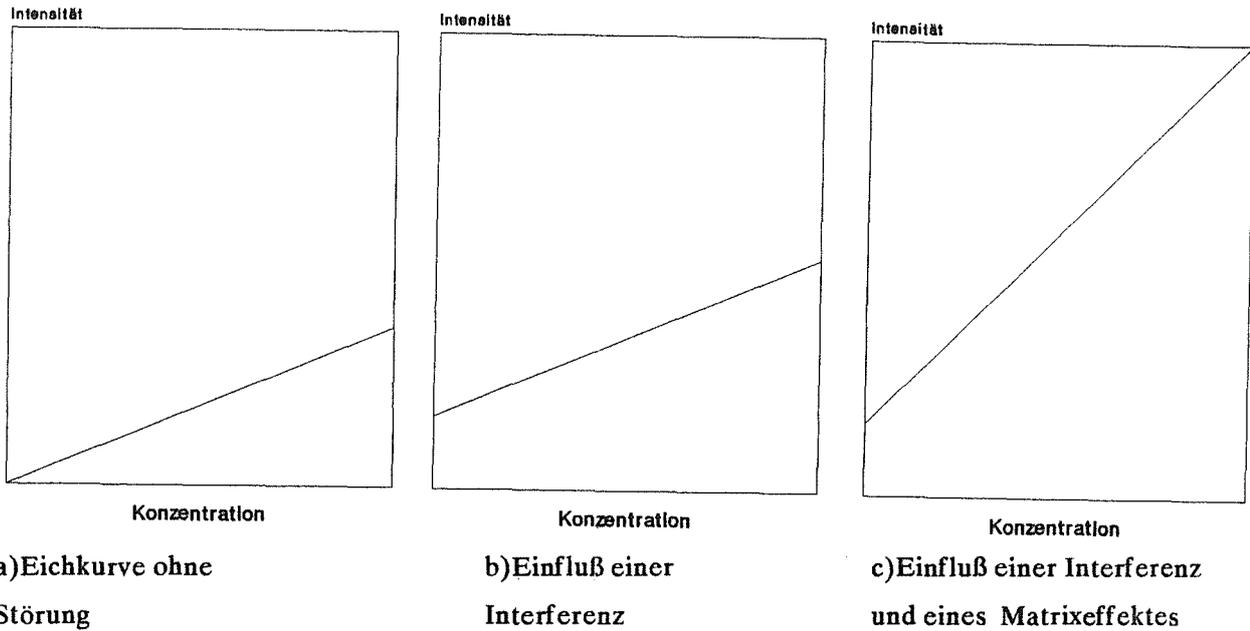


Abb. 4: Einfluß von Interferenzen und Matrixeffekten auf eine Eichkurve /26/

Eine multivariate Kalibration gelingt nur dann, wenn die einzelnen Komponenten zusätzlich zur Interferenz ein in der Hauptsache von ihnen abhängiges Meßsignal liefern.

Bei Anwendung von Sensoren mit fluorimetrischer Detektion wird das durch Kombination mehrerer Sensoren zu einem sogenannten Sensorarray erreicht, wobei die einzelnen Sensoren in der Hauptsache für nur jeweils eine Komponente ansprechbar sind. Für jede Komponente ergibt sich somit ein charakteristisches Muster (Pattern).

Hieraus folgt unmittelbar, daß die Auswahl der Sensoren bestimmend für die erfolgreiche quantitative Analyse ist, und die qualitative Zusammensetzung der Analysenlösung bekannt sein muß, um eine Vorauswahl an geeigneten Sensoren treffen zu können.

Zunächst wurden Komplexbildner, die den in Kapitel 2.2.2 beschriebenen Anforderungen an die Selektivität, Gleichgewichtskonstante, Geschwindigkeitskonstante und optischen Eigenschaften genügen, ausgewählt. Vor der Herstellung der Sensoren wurde ihre Eignung zuerst durch Messungen in Lösung überprüft. Die endgültige Auswahl der Komplexbildner wurde über ein Optimierungsverfahren getroffen. Die Optimierung wurde durch relative Maximierung der Empfindlichkeit bzw. durch Minimierung des Analysenfehlers vorgenommen. Die resultierenden optimierten Sensorarrays dieser beiden Verfahren müssen nicht notwendigerweise gleich sein, da nach verschiedenen Kriterien optimiert wird. Die Auswahl zwischen

gleich sein, da nach verschiedenen Kriterien optimiert wird. Die Auswahl zwischen den gefundenen Optima erfolgte dann durch Vergleich der Analyseergebnisse der optimierten Arrays. Die Ergebnisse der Arraysimulationen wurden auf ein Sensorarray übertragen.

#### 2.4 Grundlagen der multivariaten Kalibration

Die multivariate Kalibration stellt die Erweiterung der univariaten Kalibration dar. Die Bestimmungsgleichung für die Konzentration einer Substanz bei der univariaten Kalibration (Gl. 2b) wird durch ein System von Bestimmungsgleichungen für alle Komponenten mit allen Sensoren (Gl. 3) ersetzt.

$$(2a) S = b \cdot C + b_0$$

S: Signal

C: Konzentration der Substanz

b, b<sub>0</sub>: Eichkonstanten

$$(2b) C = S \cdot b' + b_0'$$

b' = 1/b; b<sub>0</sub>' = -b<sub>0</sub>/b

$$(3) \underline{Y} = \underline{X} \cdot \underline{B} + \underline{b}'_0 + \underline{F}$$

Y: Konzentrationsmatrix für I Eichproben und J Komponenten

X: Meßdatenmatrix für I Eichproben und K Sensoren

B: Eichmatrix

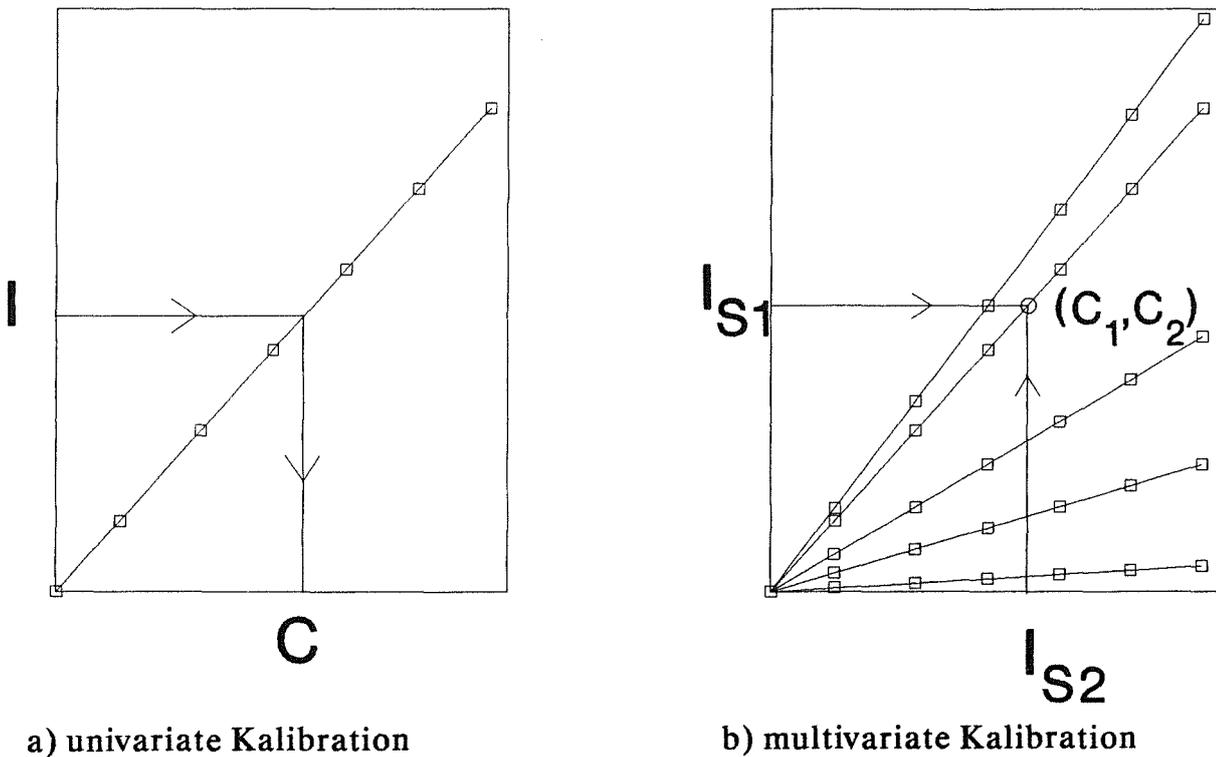
b'<sub>0</sub>: Zeilenvektor, der die Blindwerte der Sensoren enthält

F: Differenz zwischen berechneten und vorgegebenen Konzentrationen der Eichproben (residuals)

Abb. 5 veranschaulicht den Unterschied zwischen univariater (Abb. 5a) und multivariater Kalibration (Abb. 5b) für zwei Komponenten und zwei Sensoren.

Bei univariater Kalibration kann ein Meßwert I direkt in Relation zur Konzentration der Substanz gesetzt werden, wobei die Eichkurve durch Gleichung (Gl. 2b) ge-

geben ist. Bei multivariater Kalibration wird statt einer Eichkurve eine Eichkurvenschar erhalten. Jeder Punkt auf diesen Eichkurven repräsentiert eine bestimmte Zusammensetzung ( $C_1, C_2$ ) der Lösung. Werden die Meßwerte von Sensor 1 ( $I_{S1}$ ) und Sensor 2 ( $I_{S2}$ ) in dieses Diagramm eingetragen, so werden Punkte erhalten, welche die Zusammensetzung der Lösung beschreiben. Mathematisch erhält man die Kalibrationsgleichungen durch Lösen der Bestimmungsgleichungen (3). Hierzu werden - in Analogie zu den Eichkonstanten  $b, b_0$  bei univariater Kalibration - die Eichmatrix  $\underline{B}$  und der Eichvektor  $\underline{b}'_0$  mit Hilfe der Meßdaten von bekannten Proben berechnet.



a) univariate Kalibration

b) multivariate Kalibration

Abb. 5: Vergleich von univariater und multivariater Kalibration /26/

Aufgrund des Meßfehlers der Sensoren, sowie vorhandener Interferenzen und Matrixeffekte, muß die Zahl  $K$  der chemischen Sensoren größer gewählt werden als die Zahl  $J$  der Komponenten. Dies hat zur Folge, daß das lineare Gleichungssystem nicht mehr eindeutig lösbar ist. Die optimale Lösung für die Eichmatrizen wird, ebenso wie bei der univariaten Kalibration, durch eine Ausgleichsrechnung bestimmt. Bewährt hat sich die **multiple lineare Regression (MLR)** /27/, bei der die Summe der Quadrate von Differenzen zwischen berechneten und experimentellen

Konzentrationen minimiert wird. Die Bestimmungsgleichung des sogenannten least square-Estimators (LS-Estimators) lautet:

$$(4) \quad \underline{\mathbf{B}} = (\underline{\mathbf{X}}' \cdot \underline{\mathbf{X}})^{-1} \cdot \underline{\mathbf{X}} \cdot \underline{\mathbf{Y}} \quad \underline{\mathbf{X}}': \quad \text{Transponierte von } \underline{\mathbf{X}}$$

Nachdem durch Messen mehrerer Eichproben mit bekannter Zusammensetzung die Eichmatrix bestimmt worden ist, können die Konzentrationen von Proben mit unbekannter Zusammensetzung nach Gleichung (3) berechnet werden.

Probleme bei der praktischen Anwendung der multiplen linearen Regression ergeben sich durch möglicherweise in der Meßdatenmatrix vorhandene Kollinearitäten. Diese Kollinearitäten werden durch Komponenten mit ähnlichen Pattern, sich ähnlich verhaltenden Interferenzen oder Sensoren verursacht. Ähnliche Pattern oder ähnliche Interferenzen können nicht mehr "aufgelöst" werden. Die mathematische Konsequenz ist die annähernde lineare Abhängigkeit von mindestens einer Zeile der Meßdatenmatrix von den anderen. Bei der Matrixinversion treten große Fehler auf, der LS-Estimator (Gl. 4) kann nur mit großem Fehler bestimmt werden und die Konzentrationsberechnung wird zu ungenau.

Ähnliche Sensoren tragen keine neue Information über die Probenlösungen bei. Die mathematische Konsequenz ist ebenfalls die annähernde lineare Abhängigkeit, diesmal jedoch von mindestens einer Spalte der Meßdatenmatrix. Auch in diesem Fall kann der LS-Estimator (Gl. 4) nur mit großem Fehler berechnet werden.

Kollinearitäten in der Meßdatenmatrix sind schwer zu vermeiden. Komponenten mit ähnlichen Pattern können zwar durch Vergleich ihrer Pattern erkannt werden, nicht jedoch Interferenzen physikalischer oder chemischer Natur, für die kein Pattern gemessen werden kann. Auch ist es schwierig, allein aufgrund der Meßwerte zu erkennen, bei welchen chemischen Sensoren die Ähnlichkeit zu groß ist.

Weniger störanfällig für Kollinearitäten in der Meßdatenmatrix sind indirekte Kalibrationsmethoden wie z.B. partial least squares (PLS), principal component regression (PLR) oder target factor analysis (TFA). Bei diesen Methoden werden die Konzentrationen nicht direkt aus den Meßwerten der Sensoren berechnet, sondern aus Linearkombinationen der Sensoren, den sogenannten Faktoren. Ähnliche Sensoren gehen mit entsprechendem Gewicht in die Faktoren ein, wodurch ihr Einfluß vermindert wird. Ein weiterer Vorteil der indirekten Kalibration liegt in der Verringerung des Rechenaufwandes, da zur vollständigen Beschreibung der Meßdaten in der Regel weniger Faktoren als Sensoren notwendig sind.

Alle indirekten Kalibrationsmethoden haben die Berechnung von abstrakten Faktoren gemeinsam. Diese Faktoren bilden das neue, vorteilhaftere Koordinatensystem

des Meßwerttraumes. Die notwendige Zahl  $A$  der Faktoren ist bei vollständiger und richtiger Kalibration gleich der Zahl der Komponenten, Interferenzen und Matrixeffekte. Es werden diejenigen Koordinatenachsen gesucht, entlang derer die Varianz der Meßdaten maximal ist. Dadurch wird die optimale und vollständige Beschreibung der Meßdaten, die Informationen über die Zusammensetzung der Proben enthalten, mit weniger Koordinatenachsen möglich. Es kann gezeigt werden, daß diese mathematische Vorgehensweise zur Auffindung der Faktoren auf ein Eigenwertproblem zurückgeführt werden kann /26/. Die Faktoren sind die Eigenvektoren der Meßdatenmatrix. Das mathematische Verfahren der Faktorbestimmung wird principal component analysis (PCA) genannt. Die PCA ist grundlegend für alle oben genannten indirekten Kalibrationsmethoden.

Abb. 6 zeigt vereinfacht die Bedeutung der Faktoren (F) für die multivariate Kalibration am Beispiel der Messung einer Komponente in Lösungen mit variabler Matrix mit zwei chemischen Sensoren.

Die mit zwei Sensoren ermittelten Meßdaten der Eichproben haben ihre maximale Varianz entlang des Faktors F1 und eine weit geringere Varianz entlang eines weiteren Faktors F2. Die Faktoren F1 und F2 bilden das neue Koordinatensystem. Die neuen Koordinatenachsen sind als Linearkombination der Sensoren darstellbar (Abb. 6). Die Koeffizienten  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$  (loadings) sind ein Maß für die Wichtigkeit des jeweiligen Sensors bezüglich der Faktoren F1 und F2.

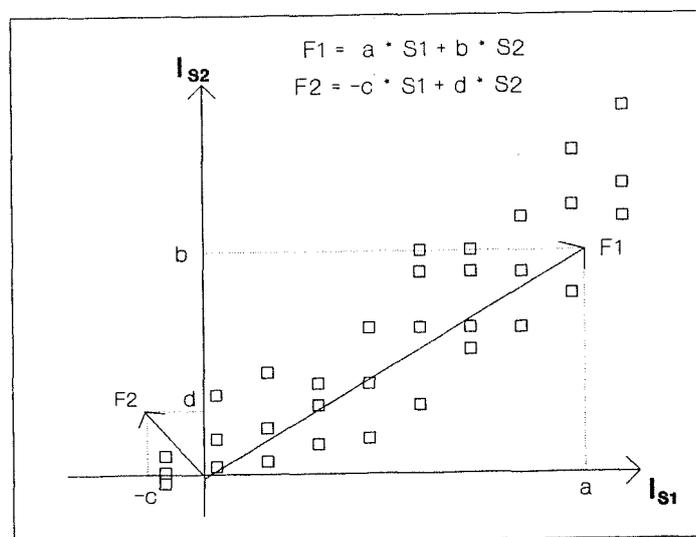


Abb. 6: Darstellung der Meßdaten ( $I_{S1}, I_{S2}$ ) eines aus zwei Sensoren bestehenden Sensorarrays mit Faktoren (F1, F2) /26/

Im Beispiel von Abb. 6 können die Meßdaten - abgesehen von einem Fehler - ausschließlich durch den Faktor F1 beschrieben werden. Der hierbei gemachte Fehler wird u.a. vom Meßfehler verursacht und durch den Faktor F2 beschrieben. Die Koordinatentransformation bewirkt also die Trennung der Meßdaten in einen Teil, der die Information über die Zusammensetzung der Proben enthält, und einen Teil, der den Meßfehler beschreibt. Die Verbesserung der Meßdatendarstellung durch Faktoren gegenüber der Darstellung durch Sensoren beruht somit auf der Eliminierung des Meßfehlers aus den Meßdaten, indem für die Konzentrationsberechnung nur diejenigen Faktoren herangezogen werden, die die chemische Varianz in den Meßdaten beschreiben. Die Genauigkeit der Konzentrationsberechnung wird dadurch erhöht. Damit einher geht die Reduktion des Rechenaufwandes (vgl. MLR), da die Meßdaten mit einem Faktor statt mit zwei Sensoren dargestellt werden (Beispiel in Abb. 6).

Die neuen Koordinatenachsen, die Faktoren, sind rein abstrakter Natur. Sie enthalten zwar die chemische Information über die Proben, entziehen sich jedoch meistens einer chemischen Interpretation. Um nun zu der gewünschten chemischen Information über die Zusammensetzung der Proben zu gelangen, muß das Kalibrationsmodell vervollständigt werden. Die genannten indirekten Kalibrationsmethoden unterscheiden sich nur in der Art und Weise der Informationsgewinnung.

Bei der **target factor analysis (TFA)** /28/ ist zusätzlich zu den Eichdaten bekannter Proben die Angabe von Pattern der reinen Komponenten notwendig. Ziel ist, im nachfolgenden Schritt den verbliebenen Anteil der Meßdaten durch die Pattern darzustellen, indem erneut eine Koordinatentransformation vorgenommen wird. Jetzt sollen die neuen Koordinatenachsen die Pattern der reinen Komponenten sein. Gelingt die Darstellung des Meßdatenraumes mit den Pattern der reinen Komponenten als Koordinatenachsen, so wird jede Probe durch einen Punkt in diesem Raum repräsentiert. Die Konzentrationen der Einzelkomponenten in der Probe sind durch die Koordinaten dieses Punktes bezüglich des "Pattern" - Koordinatensystems gegeben.

Bei der TFA werden zwei Koordinatentransformationen ausgeführt. Die erste dient der Eliminierung des Meßfehlers und günstigeren Darstellung der Meßdaten durch die maximal notwendige Zahl A von Faktoren. Die zweite Koordinatentransformation bewirkt die "Verwandlung" der abstrakten Faktoren in Faktoren mit chemischer Aussagekraft, um die Zusammensetzung der Probe aus den Meßdaten zu berechnen. Das Pattern einer Probe wird schließlich als Summe der Pattern der reinen Komponenten dargestellt. Die "Anteile" der Einzelpattern am Gesamtpattern der Probe entsprechen den Konzentrationen der Komponenten.

Diese "Verwandlung" ist nur dann möglich, wenn die Pattern aller in den Proben möglicherweise vorhandener Komponenten, Interferenzen und Matrixeffekten gemessen werden können. Demzufolge ist die TFA nicht anwendbar bei Interferenzen und Matrixeffekten, welche keine direkt meßbare Wirkung auf das Sensorarray zeigen.

Die **principal component regression (PCR)** stellt insofern eine Verbesserung dar, als die Kenntnis der reinen Pattern nicht erforderlich ist. Die multivariate Kalibration kann dann auch in Anwesenheit von Interferenzen und Matrixeffekten ohne meßbares Pattern durchgeführt werden. Der Berechnung der Faktoren durch die PCA schließt sich eine multiple lineare Regression an, wobei statt der Meßdatenmatrix die Faktormatrix in die Berechnung des LS-Estimators (Gl. 4) eingeht. Der Vorteil gegenüber der reinen MLR besteht in der Möglichkeit, Meßdatenmatrizen mit Kollinearitäten verarbeiten zu können.

Da die Faktorisierung bisher nur für die Meßdatenmatrix vorgenommen wird, werden nur Fehler bei den Meßdaten berücksichtigt. Die Konzentrationen werden von allen bisher vorgestellten Algorithmen als fehlerfrei angenommen. Dies wirkt sich z.B. nachteilig auf die Berechnung des LS-Estimators (Gl. 4) aus, da dieser durch Minimierung der quadratischen Differenz von berechneter und vorgegebener Konzentration ermittelt wird. Der **partial least squares (PLS)** - Algorithmus /29/ berücksichtigt auch Fehler in den Konzentrationsdaten, da sowohl die Meßdaten - als auch die Konzentrationsmatrix faktorisiert werden. Die Faktoren der beiden Matrizen werden gleichzeitig unter Annahme einer linearen Relation zwischen ihnen berechnet (Kap. 2.5.1). Auch beim PLS - Algorithmus wird eine lineare Beziehung zwischen den Konzentrationen und den Meßwerten vorausgesetzt. Diese Annahme ist strenggenommen nur im dynamischen Bereich der Sensoren gültig. Für praktische Anwendungen ist es jedoch vorteilhaft über den dynamischen Bereich der chemischen Sensoren hinaus zu messen. Im Gegensatz zu den multivariaten Kalibrationsmethoden MLR, TFA und PCR ist der PLS - Algorithmus auch für nichtlineare Relationen ausbaufähig. Erste Arbeiten zur geeigneten Modifizierung dieses Algorithmus sind bereits in der Literatur bekannt /30/.

In Tab. 2 sind die verschiedenen multivariaten Kalibrationsmethoden einander gegenüber gestellt. Ein Sensorarray für praktische Anwendungen muß in der Regel mehrere Komponenten in Gegenwart nicht direkt meßbarer chemischer Interferenzen und Matrixeffekten messen können. Die TFA erscheint hierfür ungeeignet.

Kollinearitäten in der Meßdatenmatrix können nicht immer ausgeschlossen werden, weshalb die MLR als Kalibrationsmethode für ein Sensorarray ausscheidet. Im Hinblick auf die immer vorhandenen Fehler in den Konzentrationsdaten erscheint der

PLS - Algorithmus dem PCR - Algorithmus für die Anwendung auf ein Sensorarray überlegen. Ein weiterer Vorteil des PLS - Algorithmus ist die Fähigkeit zur Modellierung von geringen Nichtlinearitäten, d.h. wie sie bei Messung am Ende des dynamischen Bereiches der Sensoren hinaus vorliegen. Bei entsprechender Modifizierung des Algorithmus sind auch Messungen im nichtlinearen Bereich der Sensoren möglich.

Aufgrund der vorangegangenen Ausführungen wurde zur multivariaten Kalibration eines Sensorarrays der PLS - Algorithmus gewählt.

Tab. 2: Vergleich der Methoden zur multivariaten Kalibration

Methode	Prinzip	Vorteil	Nachteil
MLR	"kleinste Fehlerquadrate"	einfacher Algorithmus	Probleme bei Kollinearitäten lineare Relation
TFA	1. Faktorisierung (PCA) 2. chemisch interpretierbare Faktoren	Reduktion des Rechenaufwandes Eliminierung des Meßfehlers	zusätzliche chemische Information nötig lineare Relation
PCR	1. Faktorisierung (PCA) 2. MLR	keine zusätzliche chemische Information	keine Berücksichtigung des Fehlers in den Konzentrationsdaten lineare Relation
PLS	PCA und MLR gleichzeitig; Faktorisierung von Meßdaten- und Konzentrationsdaten	Eliminierung der Fehler in Meß- und Konzentrationsdaten geringe Nicht-linearitäten möglich	lineare Relation *)

\*)Modifizierung für nichtlineare Daten durch Ersatz der linearen Relation (GL. 7) zwischen  $\underline{T}$  (Gl. 6) und  $\underline{U}$  (Gl. 5) durch eine nichtlineare Relation, z.B. ein Polynom, möglich

MLR: multiple lineare Regression  
TFA: Target factor analysis  
PCR: principal component regression  
PLS: partial least squares

## 2.5 Der PLS - Algorithmus

### 2.5.1 Kalibration

Von den verschiedenen existierenden Algorithmen soll an dieser Stelle nur auf denjenigen eingegangen werden, der orthogonale Faktoren berechnet. Der Vorteil besteht in der einfacheren Berechnung von statistischen Hilfsgrößen zur Auffindung von falschen Proben (Kap. 2.6).

Nachfolgend bedeuten einfach unterstrichene Kleinbuchstaben Vektoren, doppelt unterstrichene Großbuchstaben Matrizen.

Es liegen folgende Modellgleichungen zugrunde:

- (5)  $\underline{Y} = \mathbf{1}' \cdot \underline{y}_m + \underline{U} \cdot \underline{Q} + \underline{F}$
- $\underline{Y}$ : Konzentrationsmatrix  
 $\underline{y}_m$ : Vektor, der die Mittelwerte der Konzentrationen, ermittelt über die Proben, enthält  
 $\underline{U}$ : Faktoren von  $\underline{Y}$   
 $\underline{Q}$ : Loadings der Faktoren von  $\underline{U}$   
 $\underline{F}$ : Residuals von  $\underline{Y}$  (Fehler)
- (6)  $\underline{X} = \mathbf{1}' \cdot \underline{x}_m + \underline{T} \cdot \underline{P} + \underline{E}$
- $\underline{X}$ : Meßdatenmatrix  
 $\underline{x}_m$ : Vektor, der die Mittelwerte der Meßdaten, ermittelt über die Proben, enthält  
 $\underline{T}$ : Faktoren von  $\underline{X}$   
 $\underline{P}$ : Loadings der Faktoren von  $\underline{X}$   
 $\underline{E}$ : Residuals von  $\underline{X}$  (Fehler)
- (7)  $\underline{U} = \underline{D} \cdot \underline{T} + \underline{D}_0$
- $\underline{D}, \underline{D}_0$ : Regressionskoeffizienten der linearen Relation zwischen  $\underline{T}$  und  $\underline{U}$   
 $\mathbf{1}'$ : Einheitsvektor (Zeilenvektor)

Gleichung (5) und (6) beschreiben die äußeren Relationen, d.h. die Gleichungen beziehen sich jeweils ausschließlich auf eine Matrix. Gleichung (7) beschreibt die innere Relation. Sie stellt den linearen Zusammenhang zwischen den Faktoren  $\underline{T}$  der Meßdatenmatrix und  $\underline{U}$  der Konzentrationsmatrix, und damit zwischen den Meßwerten der Sensoren und den Konzentrationen der Komponenten her. Diese drei

Gleichungen werden für jeden Faktor gleichzeitig gelöst, wobei die Residuals minimiert werden.

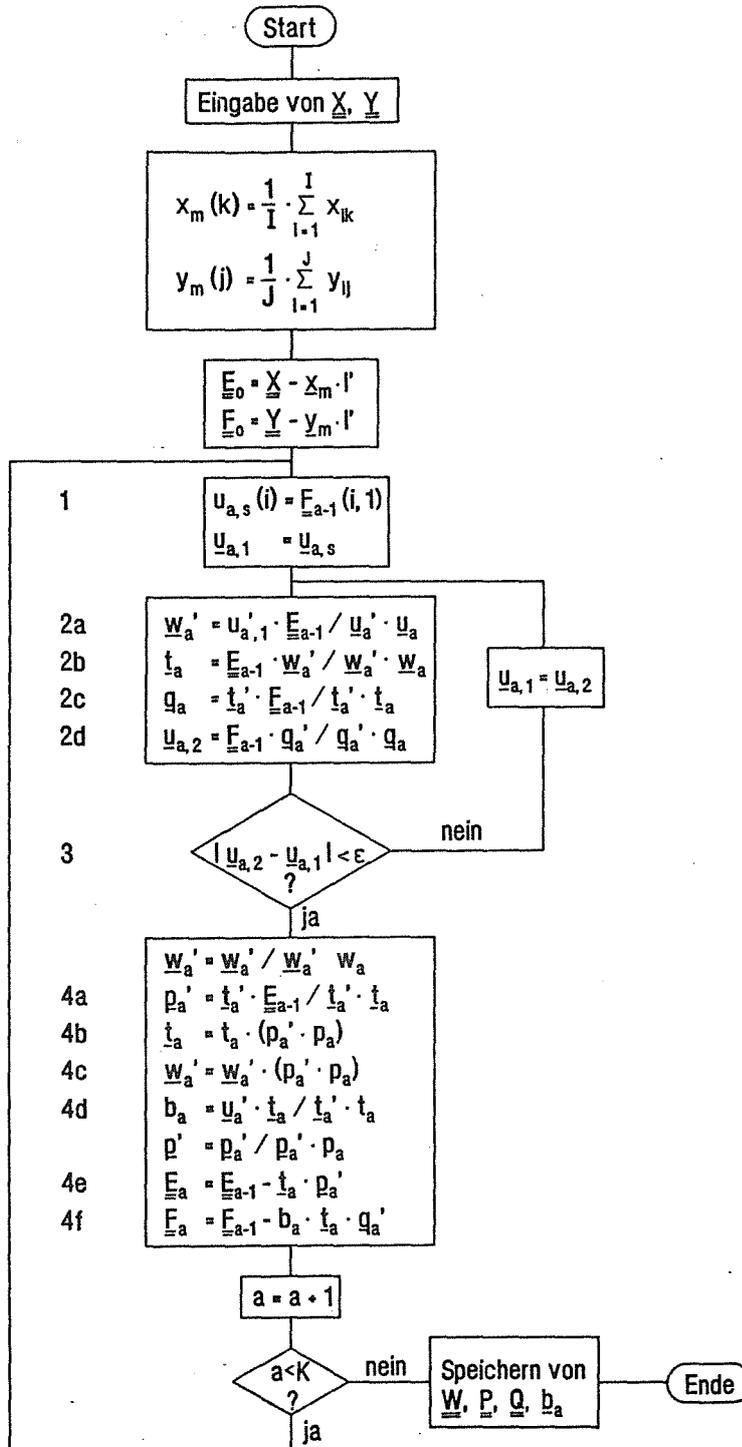


Abb. 7: Flußdiagramm der Kalibration mit dem PLS - Algorithmus

Zunächst werden die Meßdaten und die Konzentrationsdaten mittelwertzentriert (8),(9), um die Blindwerte der Sensoren zu eliminieren.

$$(8) \quad \underline{E}_0 = \underline{X} - \bar{x} \cdot \underline{1}_m$$

$$(9) \quad \underline{E}_0 = \underline{Y} - \bar{y} \cdot \underline{1}_m$$

Abb. 7 zeigt die Vorgehensweise bei der Berechnung der Faktoren, ihrer loadings sowie der Regressionskoeffizienten (innere Relation) in Form eines Flußdiagrammes. Die Spalten der Faktormatrix  $\underline{U}$  sind die Faktoren  $\underline{u}_a$  der Konzentrationsmatrix  $\underline{Y}$ , die Faktoren  $\underline{t}_a$  der Meßdatenmatrix bilden die Spalten der Faktormatrix  $\underline{T}$ . Ziel ist es, Faktoren  $\underline{t}_a$  zu finden, die die Varianz in beiden Matrizen beschreiben. Dies geschieht, indem zunächst einmal die Faktoren  $\underline{u}_a$  und  $\underline{t}_a$  gleichzeitig iterativ berechnet werden. Als Startwert für  $\underline{u}_a$  wählt man die erste Spalte der Residualmatrix  $\underline{E}_{a-1}$ , da  $\underline{u}_a$  den nach der Berechnung von  $a-1$  Faktoren  $\underline{u}$  verbliebenen Anteil der Konzentrationsdaten beschreiben soll (Abb. 7, 1). Der "Konzentrationsfaktor"  $\underline{u}_a$  wird auf die Meßdatenmatrix projiziert (Abb. 7, 2a). Der resultierende Gewichtungsvektor  $\underline{w}_a$  beschreibt den Anteil der in  $\underline{u}_a$  enthaltenen Konzentrationsvarianz an den Meßdaten. Der dazugehörige "Meßdatenfaktor"  $\underline{t}_a$  wird durch Projektion des Gewichtungsvektors  $\underline{w}_a$  auf die Meßdatenmatrix (Abb. 7, 2b) erhalten.

Die zusammengehörenden Faktoren  $\underline{t}_a$  und  $\underline{u}_a$  werden also über den Gewichtungsvektor  $\underline{w}_a$  aus den Meßdaten ermittelt. Um nun zu einem verbesserten "Konzentrationsfaktor"  $\underline{u}_a$  zu gelangen, wird analog der oben beschriebenen Vorgehensweise verfahren.

Ausgehend vom soeben ermittelten Faktor  $\underline{t}_a$  wird über die Berechnung des sogenannten "loading" - Vektors  $\underline{q}_a$  (Abb. 7, 2c) der neue Konzentrationsfaktor  $\underline{u}_a$  ermittelt (Abb. 7, 2d).

Die Iterationsschleife  $\underline{u}_a - \underline{w}_a - \underline{t}_a - \underline{q}_a - \underline{u}_a$  wird solange wiederholt, bis sich der Faktor  $\underline{u}_a$  innerhalb einer vorgegebenen Genauigkeit  $\epsilon$  nicht mehr ändert (Abb. 7, 3). In der Regel sind hierzu weniger als zehn Iterationsschritte notwendig. Nach Auffinden des Faktors  $\underline{u}_a$ , der den maximalen Anteil an der Restvarianz in der Konzentrationsmatrix beschreibt, wird der Anteil des dazugehörigen Faktors  $\underline{t}_a$  an der Restvarianz der Meßdatenmatrix, der sogenannte "loading" - Vektor  $\underline{p}_a$ , ermittelt (Abb. 7, 4a). Der Faktor  $\underline{t}_a$  und sein Wichtungsvektor  $\underline{w}_a$  werden entsprechend dem "loading" - Vektor  $\underline{p}_a$  modifiziert (Abb. 7, 4b,c). Gemäß der inneren Relation (7) wird der Regressionskoeffizient  $b_a$  (Skalar !), d.h. der Proportionalitätsfaktor zwischen dem "Meßdatenfaktor"  $\underline{t}_a$  und dem "Konzentrationsfaktor"

$\underline{u}_a$  errechnet (Abb. 7, 4d). Mit diesem Regressionskoeffizienten  $b_a$  können nun die Varianzen in beiden Matrizen durch den gleichen Faktor  $\underline{t}_a$  beschrieben werden.

Nun werden die durch die Faktoren  $\underline{t}_a$  und  $\underline{u}_a$  beschriebenen Anteile an der Restvarianz der Daten von der entsprechenden Residualmatrix subtrahiert (Abb. 7, 4e und f). Auf diese Weise wird sichergestellt, daß die nacheinander berechneten Faktoren der Meßdaten - und Konzentrationsmatrix voneinander unabhängig und somit orthogonal sind. Alle berechneten Vektoren werden auf die Länge Eins normiert.

Es werden zunächst ebensoviele Faktoren  $\underline{t}_a$ ,  $\underline{w}_a$ ,  $\underline{p}_a$ ,  $\underline{q}_a$  und Regressionskoeffizienten  $b_a$  berechnet wie Spalten in der Meßdatenmatrix, d.h. Sensoren, vorhanden sind. Die optimale Anzahl A von Faktoren muß durch Validierung des Kalibrationsmodells ermittelt werden.

### 2.5.2 Overfitting und Underfitting /31/

Die Zerlegung der Meßdaten - und Konzentrationsmatrizen in einen Teil für die chemische Information und einen Teil für den Fehler geschieht durch die Wahl der optimalen Zahl A von Faktoren. In diesen A Faktoren muß die vollständige chemische Information enthalten sein. Die restlichen Faktoren beschreiben den Fehler in den Meßdaten und Konzentrationsdaten. Die optimale Zahl A von Faktoren wird durch Minimierung des bei der Konzentrationsberechnung mit a Faktoren verursachten Fehlers ermittelt.

Ein Maß für den Fehler ist die Restvarianz  $V_{y,g}(a)$  der Konzentrationsdaten nach Berechnung mit a Faktoren (Gl. 10).

$$(10) \quad V_{y,g}(a) = \sum_{j=1}^J \sum_{i=1}^I f_{i,j}^2$$

J:	Zahl der Komponenten
I:	Zahl der Proben
$f_{i,j}$ :	Residual der Konzentration von Komponente j in Probe i

In Abb. 8 ist  $V_{y,g}(a)$  in Abhängigkeit von der Zahl a der Faktoren für ein Beispiel aufgetragen. Sie wird durch zwei Größen beeinflusst:

1. Mit zunehmender Zahl von berücksichtigten Faktoren wird das Kalibrationsmodell vervollständigt. Die Konzentrationsmatrix wird besser reproduziert, d.h., derjenige Teil von  $V_{y,g}(a)$ , der von der Unvollständigkeit des Modells verursacht wird, strebt gegen Null (Kurve 1 in Abb. 8).

2. Die Fehler in den Meß - und Konzentrationsdaten werden mit steigender Zahl von Faktoren zunehmend mit eingerechnet. Entsprechend steigt dieser Teil von  $V_{y,g}(a)$  mit zunehmender Zahl von Faktoren an (Kurve 2 in Abb. 8).

Kurve 3 in Abb. 8 ist die Summenkurve von 1 und 2, d.h. die Summe von beiden Fehlerursachen. Ihr Minimum zeigt die optimale Zahl A von Faktoren.

Underfitting bedeutet die Verwendung von zu wenig Faktoren. Das Kalibrationsmodell ist unvollständig, die Konzentrationen werden fehlerhaft berechnet. Overfitting resultiert bei Verwendung von mehr als A Faktoren. Der dadurch im Kalibrationsmodell enthaltene Meßfehler verfälscht die Bestimmung von Proben mit unbekannter Zusammensetzung. Das Finden der optimalen Zahl von Faktoren hat somit eine zentrale Bedeutung für das Kalibrationsmodell. Da die graphische Auswertung (Abb. 8) zur Ermittlung der optimalen Zahl von Faktoren zu ungenau ist, wird sie durch Validierung bestimmt.

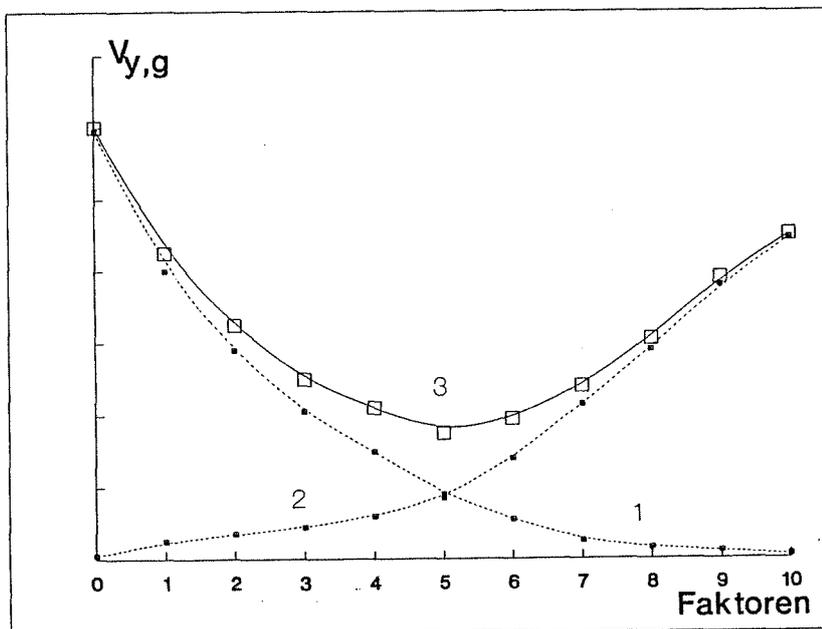


Abb. 8: Abhängigkeit der Datenvarianz von der Zahl der Faktoren /30/

### 2.5.3 Validierung

Das Kalibrationsmodell kann durch äußere oder innere Validierung überprüft werden.

Zur **äußeren Validierung** wird ein unabhängiges Testset von Proben mit bekannter Zusammensetzung mit dem Kalibrationsmodell berechnet. Aus den Residuals der Konzentrationen, d.h. den Differenzen zwischen bekannter Konzentration und errechneter Konzentration, wird nach Gleichung (11) und (12) die Restvarianz  $V_{y,g}(a)$  der Konzentrationsbestimmung in Abhängigkeit von der Zahl  $a$  der verwendeten Faktoren mit diesem Kalibrationsmodell ermittelt /32/. Diejenige Zahl  $A$  von Faktoren, die das kleinste  $V_{y,g}(a)$  zur Folge hat, ist optimal.

$$(11) \quad V_{y,j}(a) = \frac{1}{I_p} \cdot \sum_{i=1}^{I_p} f_{ij}^2$$

$I_p$ : Zahl der Testproben  
 $a$ : Zahl der verwendeten Faktoren  
 $f_{ij}$ : residual der Konzentration von Komponente  $j$  in Probe  $i$

$$(12) \quad V_{y,g}(a) = \frac{1}{J} \cdot \sum_{j=1}^J V_{y,j}(a)$$

$J$ : Zahl der Komponenten

Der Nachteil dieser Validierungsmethode ist der zusätzliche Meßaufwand für das Testset.

Die **inneren Validierungsmethoden** "cross validation" und "leverage correction" greifen auf die Proben zurück, die bereits während der Berechnung des Kalibrationsmodells verwendet wurden. Auch hier wird die Restvarianz nach der Konzentrationsberechnung mit Gleichung (11) und (12) ermittelt /32/.

Zur Validierung mittels "**cross validation**" wird das Kalibrationsset in  $N$  Teile unterteilt. Jeder Teil wird einmal als Testset verwendet. Hierzu wird ein Kalibrationsmodell ohne diese Testproben errechnet, und die Testproben als unbekannte Proben behandelt. Für jedes der  $N$  Testsets wird die optimale Anzahl von Faktoren ermittelt. Die tatsächliche optimale Zahl  $A$  ist dann gleich dem gerundeten Mittelwert der einzelnen Optima. Auf diese Weise wird mit unabhängigen Proben ohne zusätzlichen Meßaufwand validiert.

Zur Validierung mittels "**leverage correction**" werden alle Kalibrationsproben mit dem Kalibrationsmodell berechnet. Die Restvarianz  $V_{y,g}(a)$  wird nach Gleichung

(11) und (12) ermittelt. Um das "overfitting" zu vermeiden, werden statt der Residuals  $f_{i,j}$  "leverage" korrigierte residuals  $f_{i,j}^c$  (13) eingesetzt. Das "leverage" einer Probe wird nach Gleichung (14) für  $a$  Faktoren berechnet. Es beschreibt den Anteil dieser Probe am Kalibrationsmodell.

$$(13) \quad f_{i,j}^c = \frac{f_{i,j}}{(1-h_i(a))} \quad \begin{array}{l} h_i(a): \text{leverage der Probe } i \text{ f\"ur } a \text{ Faktoren} \\ t_{ia}: \text{ i.tes Element des Faktors } a \end{array}$$

$$(13) \quad h_i(a) = \sum_{a=1}^A \frac{t_{ia}^2}{\mathbf{t}'_a \cdot \mathbf{t}_a}$$

#### 2.5.4 Bestimmung der Konzentrationen (Prediction)

Während der Kalibration (Kap. 2.5.1, Abb. 7) werden die Faktoren  $\mathbf{t}_a$ , die loadings  $\mathbf{p}_a$ ,  $\mathbf{q}_a$ , die Wichtungsvektoren  $\mathbf{w}_a$  und die Regressionskoeffizienten  $b_a$  des Kalibrationsmodells ermittelt. Diese werden nun zur Konzentrationsberechnung von unbekanntem Proben herangezogen.

Abb. 9 zeigt das Flußdiagramm des "Prediction" Algorithmus. Nach dem Einlesen des Kalibrationsmodells, der Meßdaten der Proben mit unbekannter Zusammensetzung sowie der Mittelwertzentrierung der Meßdaten, werden zunächst  $A$  Faktoren  $\mathbf{t}_a$  der Meßdatenmatrix der unbekanntem Proben nacheinander durch Projektion des Wichtungsvektors  $\mathbf{w}_a$  auf die Meßdaten berechnet (Abb. 9, 4). Dies gleicht der Berechnung des Faktors  $\mathbf{t}_a$  während der Kalibration (Abb. 7, 2b). Der Unterschied besteht in der Verwendung der Gewichtungsvektoren aus der Kalibration.

Der durch die Faktoren  $\mathbf{t}_a$  beschriebene Anteil an der Restvarianz der Meßdaten wird von den Meßdaten subtrahiert (Abb. 9, 5), so daß der nächste Faktor unabhängig (orthogonal) von den zuvor berechneten ist.

Nachdem alle  $A$  Faktoren ermittelt worden sind, können die Konzentrationen  $y_{i,j}$  der Komponenten  $j$  in den Proben  $i$  berechnet werden (Abb. 9, 6).

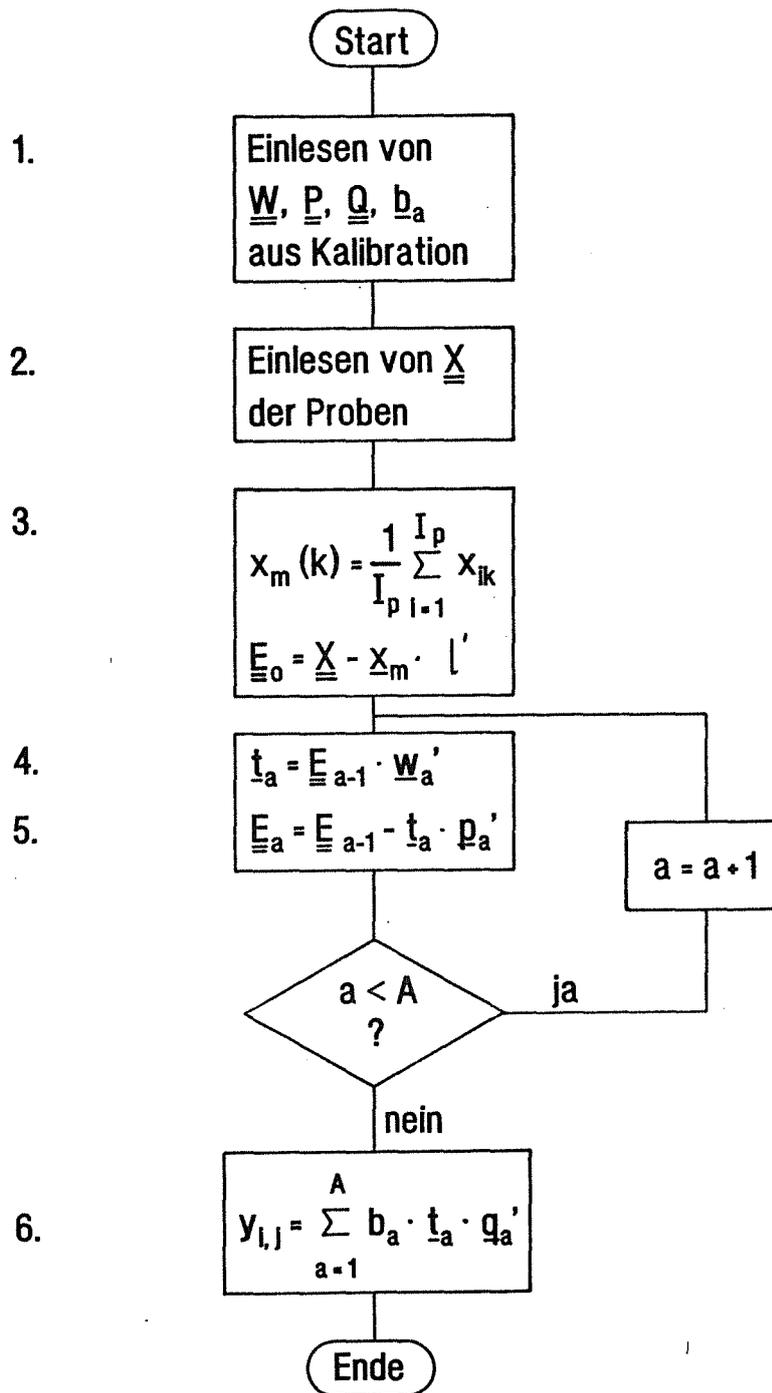


Abb. 9 Flußdiagramm zur Berechnung von Konzentrationen unbekannter Proben mit PLS

## 2.6 Detektion von Ausreißern

Unter Ausreißern sind falsche oder extreme Proben zu verstehen. Falsche Proben resultieren durch Messung mit falschen Meßparametern oder, im Fall der Kalibrationsproben, durch Herstellen von Proben mit falscher Zusammensetzung (Pipettier - bzw. Wägefehler). Das Versagen bzw. die Drift eines Sensors verfälscht ebenfalls die Meßdaten. Falsche Proben müssen erkannt werden, um Fehler im Kalibrationsmodell bzw. falsche Aussagen über spätere unbekannte Proben zu vermeiden.

Extreme Proben sind fehlerfrei bezüglich Meßparameter und Meßdaten, liegen jedoch außerhalb des dynamischen Bereiches eines oder mehrerer Sensoren. Sie müssen von den falschen Proben unterschieden werden können, da sie für das Kalibrationsmodell wichtig sind, will man in diesem Konzentrationsbereich messen. Die Kalibrationsproben müssen schließlich den gesamten Konzentrationsbereich aller Komponenten abdecken, in welchem das Sensorarray angewandt wird.

Ziel ist es, die falschen Proben von den richtigen oder extremen Proben zu unterscheiden und sie aus dem Kalibrationsset auszusondern.

Der F - Test und das "leverage" der Probe sind Kriterien zur Beurteilung von Ausreißern bzw. zur Unterscheidung zwischen falschen und extremen Proben.

### 2.6.1 Der F - Test

Der F - Test /33/ dient u.a. dem Vergleich von zwei Analysenverfahren. Er erlaubt Aussagen darüber, ob die Fehler der beiden verschiedenen Verfahren signifikant voneinander abweichen. Hierzu werden die Standardabweichungen der beiden Verfahren miteinander verglichen, indem der Quotient  $F_{n,m}$  der Quadrate der Standardabweichungen gebildet wird (Gl. 15).

$$(15) F_{n,m} = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

$s_1$ : Standardabweichung Verfahren 1  
 $s_2$ : Standardabweichung Verfahren 2  
 $n$ : Freiheitsgrad Verfahren 1  
 $m$ : Freiheitsgrad Verfahren 2

mit  $s_1 > s_2$

Die Freiheitsgrade der Verfahren errechnen sich aus der jeweiligen Probenzahl vermindert um eins. Sind die beiden Standardabweichungen statistisch gleich, so ist der Quotient  $F_{n,m}$  f-verteilt und überschreitet einen von den Freiheitsgraden abhängigen Grenzwert nicht. Die Tabelle A1 dieser Grenzwerte (F-Verteilung) befindet sich im Anhang 6.1.

Voraussetzung für die Anwendung des F- Testes ist die Normalverteilung der gemessenen Proben.

Übertragen auf ein Sensorarray bedeutet ein Ausreißer eine Probe mit signifikant verschiedener Standardabweichung im Vergleich zur mittleren Standardabweichung der Kalibrationsproben. Es muß jedoch beachtet werden, daß zur Berechnung der Freiheitsgrade nicht nur die Zahl  $I_c$  der Proben herangezogen werden darf, sondern auch die Zahl  $K$  der Sensoren, die Zahl  $J$  der Komponenten sowie die optimale Zahl  $A$  von Faktoren berücksichtigt werden muß. Es existiert kein theoretisch ableitbarer Zusammenhang zwischen diesen Größen und der Zahl der Freiheitsgrade. Martens gibt empirische Beziehungen an /34/. Sie werden in dieser Arbeit verwendet.

Um Ausreißer im Kalibrationsdatensatz mit Hilfe des F - Tests zu erkennen, wird der Quotient von der Standardabweichung einer Probe (Gl. 16 bzw. 20) und der mittleren Standardabweichung des gesamten Kalibrationssets (Gl. 17 bzw. 21) gebildet. Dies wird jeweils für die Meß - und Konzentrationsdaten getrennt durchgeführt. Die Zahl der Freiheitsgrade für eine Probe und die mittlere Standardabweichung des Kalibrationssets wird nach den Gleichungen 18 und 19 (Meßdaten) bzw. 22 und 23 (Konzentrationsdaten) berechnet.

$$(16) \quad s_{x,i}^2 = \frac{1}{df_{x,i}} \sum_{k=1}^K e_{i,k}^2$$

$$(17) \quad s_{x,g}^2 = \frac{1}{df_{g,x}} \sum_{i=1}^I s_{x,i}^2$$

$$(18) \quad df_{x,g} = (I-1) \cdot K - I \cdot A$$

$$(19) \quad df_{x,i} = df_{x,g} / I_c$$

$$(20) \quad s_{y,i}^2 = \frac{1}{df_{y,i}} \sum_{j=1}^J f_{i,j}^2$$

$$(21) \quad s_{y,g}^2 = \frac{1}{df_{y,g}} \sum_{i=1}^I s_{y,i}^2$$

$$(22) \quad df_{y,g} = (I-1) \cdot J \cdot A \cdot 2$$

$$(23) \quad df_{y,i} = df_{y,g} / I_c$$

Es bedeuten:

**K:** Zahl der Meßwerte

**I<sub>c</sub>:** Zahl der Proben

**J:** Zahl der Komponenten

**e<sub>i,k</sub>:** Residual der Probe i von Meßwert k

**s<sub>x,i</sub>:** Standardabweichung der Meßwerte der Probe i

**s<sub>x,g</sub>:** mittlere Standardabweichung der Meßwerte der Kalibrationsproben

**df<sub>x,i</sub>:** Freiheitsgrad der Probe i (Meßdaten)

**df<sub>x,g</sub>:** Freiheitsgrad der mittleren Standardabweichung (Meßdaten)

**f<sub>i,j</sub>:** Residual der Probe i von Komponente j

**s<sub>y,i</sub>:** Standardabweichung der Konzentrationen der Probe i

**s<sub>y,g</sub>:** mittlere Standardabweichung der Konzentrationsdaten der Kalibrationsproben

**df<sub>y,i</sub>:** Freiheitsgrad der Probe i (Konzentrationsdaten)

**df<sub>y,g</sub>:** Freiheitsgrad der mittleren Standardabweichung (Konzentrationsdaten)

Für Proben mit unbekannter Zusammensetzung sind Berechnungen nach (Gl. 20, 21) nicht möglich. Es kann nur ein F - Test für die Meßdaten durchgeführt werden (Gl. 16, 17), wobei I die Zahl der unbekanntenen Proben ist. Die Zahl der Freiheitsgrade für eine Probe wird nach Gleichung 24 berechnet.

$$(24) \quad df_{x,i} = K - A$$

**A:** optimale Zahl von Faktoren

**K:** Zahl der Meßwerte der Sensoren

### 2.6.2 "leverage" der Probe

Gemäß Gleichung 14 beschreibt das "leverage" einer Probe  $h_i(a)$  den Anteil der Probe  $i$  am Kalibrationsmodell mit  $a$  Faktoren. Der Mittelwert über alle  $h_i(a)$  des Kalibrationssets kann nach /32/ durch den Quotienten aus der Zahl  $A$  der Faktoren und der Zahl  $I_c$  der Proben approximiert werden (Gl. 25).

$$(25) \quad \bar{h}_a \approx \frac{A}{K}$$

Extreme und falsche Proben weisen ein großes "leverage" auf. Die Ausreißer - Warnung erfolgt bei deutlicher Überschreitung des zu erwarteten Wertes für  $h_i(a)$  (Gl. 25).

$h_i(a) \approx 1$  bedeutet, daß die Probe  $i$  einen Faktor allein "belegt". Bei fehlerhaften Proben wird hierdurch das Kalibrationsmodell stark verfälscht. Bei extremen Proben ergeben sich Probleme, wenn sie mit großem Meßfehler gemessen wurden, da dieser Meßfehler in einem relevanten Faktor enthalten ist.

### 2.6.3 Beurteilung von falschen und extremen Proben

Es werden der F- Test und das "leverage" der Probe herangezogen. Voraussetzung für den F - Test ist die Normalverteilung der Proben. Für die Kalibrationsproben ist keine Aussage über die statistische Verteilung möglich. Im allgemeinen strebt die Verteilung für eine große Probenzahl gegen die Normalverteilung, so daß der F - Test desto sicherer angewandt werden kann, je größer das Kalibrationsset ist. Zudem müssen die zu vergleichenden Standardabweichungen voneinander unabhängig sein. Dies ist im Fall des F - Tests für Kalibrationsproben nicht erfüllt, da zur Berechnung der mittleren Standardabweichung jede Kalibrationsprobe verwendet wird. Aus diesen Gründen kann der F - Test nicht als alleiniges Kriterium zur Erkennung von Ausreißern dienen. Er gibt lediglich wertvolle Hinweise und wird durch das Hilfskriterium "leverage" ergänzt. Proben werden als falsch verworfen, wenn sie mindestens zwei Kriterien erfüllen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Programm zur Durchführung der Ausreißeranalyse erstellt.

## 2.7 Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit

Dieses Optimierungsverfahren geht auf H. Junker, G. Bergmann /35/ und H. Kaiser /36/ zurück. Kaiser /36/ behandelte die theoretischen Grundlagen für eine optimale Wellenlängenauswahl eines IR-Spektrums zur multivariaten Kalibration. Bei Anwendung dieses Optimierungsverfahrens auf ein Sensorarray ersetzen die Meßwerte der Sensoren die Wellenlängen des Spektrums.

Der Meßwert des Sensors ist eine Funktion der Konzentration aller Komponenten der Lösung, die sogenannte Eichfunktion des Sensors, wobei die verschiedenen Komponenten unterschiedlich große Beiträge zum Meßwert leisten.

Für die mathematische Herleitung dieses Optimierungsverfahrens wurden im wesentlichen zwei Annahmen gemacht:

1. Die Beiträge der Komponenten  $j$  zu dem Meßwert  $k$  sind additiv (Gl. 26)

$$(26) \quad x_k = \sum_{j=1}^J f_{jk}(y_j)$$

$x_k$ : k.ter Meßwert  
 $f_{jk}(y_j)$ : Beitrag der Komponente  $j$  zum k.ten Meßwert

2. Die Eichfunktionen der Meßstellen sind stetig differenzierbar.

Die 2. Annahme ist physikalisch sinnvoll, da dicht beieinander liegende Konzentrationen einer Komponente dicht aufeinander folgende Meßwerte haben.

Jeder Meßwert  $k$  hat eine Eichfunktion (26), so daß sich ein System von Eichfunktionen ergibt. Diese Eichfunktionen müssen zur Berechnung der Konzentrationen der Komponenten gelöst werden. Allgemein gilt für die Lösbarkeit eines Gleichungssystems, daß die Zahl  $K$  der Meßstellen größer oder gleich der Zahl  $J$  der Komponenten sein muß. Die Herleitung des Optimierungsverfahrens wird von Kaiser /36/ für den Fall  $K=J$  durchgeführt, ist jedoch prinzipiell auf den günstigeren Fall  $K>J$  übertragbar /35/.

Zur Vereinfachung des Systems der Eichfunktionen werden die stetig differenzierbaren Eichfunktionen durch die linearen Glieder der Taylorreihe approximiert (Gl. 27).

$$(27) \quad x_k = \sum_{j=1}^J f_{jk}(y_j) = \sum_{j=1}^J (f_{jk}(0) + f'_{jk}(0) \cdot y_j)$$

Für alle Meßwerte der Sensoren ergibt sich so ein lineares Gleichungssystem (28), welches in Matrixform lautet:

$$(28) \quad \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \\ \vdots \\ x_K \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} f'_{11}(0) & f'_{12}(0) & \dots & f'_{1J}(0) \\ f'_{21}(0) & f'_{22}(0) & \dots & f'_{2J}(0) \\ f'_{31}(0) & f'_{32}(0) & \dots & f'_{3J}(0) \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ f'_{K1}(0) & f'_{K2}(0) & \dots & f'_{KJ}(0) \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} y_1 \\ y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_K \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} F_1(0) \\ F_1(0) \\ F_2(0) \\ \vdots \\ F_K(0) \end{bmatrix}$$

mit  $F_K(0) = \sum_{j=1}^J f_{jk}(0)$  als Blindwert des k.ten Meßwertes.

In Matrixschreibweise lautet obiges Gleichungssystem

$$(29) \quad \underline{x} = \underline{B} \cdot \underline{y} + \underline{b}_0'$$

Der Vektor  $\underline{x}$  besteht aus den K Meßwerten aller Sensoren für eine Analysenlösung. Der Vektor  $\underline{y}$  beschreibt die Zusammensetzung der Analysenlösung.  $\underline{B}$  wird die Eichmatrix genannt. Sie enthält gemäß Gleichung (28) die partiellen Ableitungen  $f'_{jk}$  der Eichfunktionen nach den Konzentrationen der Komponenten. Die physikalische Bedeutung der partiellen Ableitungen  $f'_{jk}$  ist mit der Empfindlichkeit des k.ten Meßwertes für die Komponente j identisch, da die Empfindlichkeit eines Analysenverfahrens für eine Komponente j - wie bereits in Kapitel 2.1 aufgeführt - gleich der Steigung der Eichkurve für die Komponente j ist. Unter Berücksichtigung der eingangs gemachten Annahme der Additivität der Eichkurven ist die Steigung der Summeneichkurve gleich der Summe der Steigungen der Eichkurven jeder Komponente. Die Empfindlichkeit des k.ten Meßwertes ist demzufolge die Summe der einzelnen (partiellen) Empfindlichkeiten dieses Meßwertes für alle Komponenten j der Analysenlösung.

Ein Sensorarray ist nur dann sinnvoll, wenn jeder Sensor überwiegend auf eine Komponente anspricht, und die Querempfindlichkeit dieses Sensors für die anderen Komponenten einen geringeren Beitrag zum Meßsignal erbringt. Übertragen auf die Eichmatrix bedeutet dies, daß die partielle Empfindlichkeit jedes Sensors für eine Komponente groß, für die anderen Komponenten klein sein soll.

Die Eichmatrix setzt sich aus den partiellen Empfindlichkeiten der Sensoren für die Komponenten zusammen. Sie beschreibt somit auch die gesamte Empfindlichkeit des Sensorarrays. Kaiser /36/ definiert die Empfindlichkeit  $H$  des multivariaten Verfahrens über die Determinante der Eichmatrix (Gl. 30).

$$(30) \quad H = \text{Det}(\underline{\underline{B}})$$

Nun ist auch eine mathematische Definition der Begriffe Selektivität und Spezifität möglich:

- volle Selektivität: Nur die Diagonalelemente der Eichmatrix  $\underline{\underline{B}}$  sind ungleich Null.
- volle Spezifität: Nur ein Diagonalelement der Eichmatrix  $\underline{\underline{B}}$  ist ungleich Null.

Die Matrixelemente außerhalb der Diagonalen sind ein Maß für die Querempfindlichkeit des jeweiligen Sensors für andere Komponenten.

Auch die mathematische Bedingung für die Lösbarkeit eines linearen Gleichungssystems,  $\text{Det}(\underline{\underline{B}}) = 0$ , kann nun physikalisch verstanden werden. Die Empfindlichkeit eines Analysenverfahrens muß ungleich Null sein, damit Änderungen in der Zusammensetzung der Lösung veränderte Meßwerte zur Folge haben und so überhaupt erst meßbar werden.

Basierend auf der von Kaiser /36/ eingeführten Eichmatrix  $B$  entwickelten Junker und Bergmann /35/ ein Verfahren zur Optimierung der Wellenlängenauswahl (hier: Meßwertauswahl der Sensoren), die relative Maximierung der Empfindlichkeit. Sie fügten den von Kaiser gemachten Annahmen eine weitere, nämlich die Linearität der Eichkurven, hinzu. Die von Kaiser eingeführte Eichmatrix  $\underline{\underline{B}}$  enthält die partiellen Ableitungen der Eichkurven der Meßwerte, weshalb sie streng nur lokal gültig ist. Bei linearen Eichkurven sind die partiellen Ableitungen jedoch konstant und die Eichmatrix ist für den gesamten linearen Bereich gültig.

Es läßt sich zeigen, daß die Konzentrationsberechnung mit multivariater Kalibration genauer wird, wenn bei der Kalibration sowohl die Zahl  $K$  der Sensoren als auch die Zahl  $N$  der Eichlösungen größer als die Zahl  $J$  der zu bestimmenden Komponenten ist (zweidimensionale Überbestimmung) /35/. Die Eichmatrix  $\underline{\underline{B}}$  ist in diesem Fall unsymmetrisch. Die von Kaiser eingeführte Definition der Empfindlichkeit  $H$  wird erweitert zu:

$$(31) \quad H = (\text{Det}(\underline{\underline{B}}' \cdot \underline{\underline{B}}))^{0.5} \quad \underline{\underline{B}}': \quad \text{Transponierte von } \underline{\underline{B}}$$

Diese Definition enthält den von Kaiser betrachteten Spezialfall  $K = N$ .

Zur Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit wird folgendermaßen vorgegangen:

Es wird eine Vorauswahl der Sensoren getroffen. Dies geschieht unter chemischen Gesichtspunkten, wie sie sich aus den an die Sensoren gestellten Anforderungen (Kap. 2.1.5) ergeben. Mit jedem Sensor werden die Eichkurven für alle Komponenten gemessen. Bei Erfüllung der von Kaiser bzw. Junker und Bergmann gemachten Annahmen der Additivität und Linearität der Eichkurven sind die partiellen Empfindlichkeiten der Sensoren für die Komponente identisch mit den Steigungen der Eichkurven. Die Eichmatrix setzt sich somit aus den Steigungen aller Eichkurven zusammen.

Aus der so erhaltenen Eichmatrix  $\underline{B}$  werden nacheinander jeweils eine Spalte, d.h. ein Meßwert entfernt und die Empfindlichkeit gemäß Gleichung (31) berechnet. Derjenige chemische Sensor, dessen Streichung die größte Empfindlichkeit zur Folge hat, ist entbehrlich, denn sein Betrag zur Empfindlichkeit des Sensorarrays ist am geringsten. Er wird entfernt. Diese Vorgehensweise wird solange wiederholt, bis die Mindestzahl von Meßwerten erreicht ist. Bei diesem Optimierungsverfahren können nur jeweils die Empfindlichkeiten eines Schrittes verglichen werden, da sich mit zunehmender Verkleinerung der Eichmatrix  $\underline{B}$  der absolute Wert ihrer Determinante verringert. Die optimale Meßwertauswahl wird durch Vergleich der Bestimmungsfehler der nach jedem Schritt gefundenen Optima ermittelt. Aus diesem Grund heißt dieses Optimierungsverfahren auch "Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Programm erstellt, das dieses Optimierungsverfahren für Meßwerte von Sensoren bzw. Komplexbildnern durchführt.

### 3. Experimente

#### 3.1 Fluorimetrische Messungen in Lösung

Alle Messungen wurden bei 20 °C mit einem Spektralfluorophotometer (Shimadzu, Duisburg, Typ RF5000) durchgeführt. Die Küvetten und Glasgeräte wurden vor der Benutzung mit warmer halbkonzentrierter Salpetersäure und bidestilliertem Wasser gespült. Zur Vermeidung von temperaturbedingten Volumenfehlern wurden die Stammlösungen und Puffer vor dem Verdünnen auf 20 °C temperiert.

##### 3.1.1 Stammlösungen

Für die Stammlösungen wurde bidestilliertes Wasser bzw. Ethanol p.a. verwendet. Es wurden folgende Stammlösungen hergestellt:

Calcein: 0.197 g/l H<sub>2</sub>O

Phenylfluoron: 11.8 mg/l H<sub>2</sub>O

Morin: 3.19 g/l Ethanol

8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin: 4.72 g/l H<sub>2</sub>O

Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon: 0.968 g/l Ethanol

Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon: 1.5 g/l Ethanol

4-Amino-5'-Sulfonsäure-2,2'-Dihydroxy-Azobenzol: 1.6 g/l H<sub>2</sub>O

Aluminium, Zink und Kupfer: 1 g/l (Standardlösungen, Merck, Darmstadt)

Chrom: 0.513 g CrCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O/l H<sub>2</sub>O; stab. mit 1 Tropfen konz. HNO<sub>3</sub>

Acetatpuffer: Die Acetatpuffer pH 4.4, pH 4.7 und pH 5.4 wurden gemäß der Puffertabelle in /37/ hergestellt.

##### 3.1.2 Durchführung der Messungen

Die Standardlösungen wurden durch Pipettieren entsprechender Aliquote der Metallionstammlösungen in 100 ml Meßkolben und Auffüllen mit Acetatpuffer pH 4.7 hergestellt. Zur Messung der Fluoreszenzspektren wurden mit Ausnahme von Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon je 3 ml Eichlösung in einer Küvette mit 0.1 ml Komplexbildnerlösung vermischt. Die Meßbedingungen sind in Tab. 3 aufgeführt. Die Meßlösungen mit Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon setzten sich aus 2 ml Eichlösung und 1 ml Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Stammlösung zusammen.

Tab. 3: Meßbedingungen der Komplexbildner

Komplexbildner	Anregung nm	Emission nm	Zeit min.	Spaltbreite Ex./Em. nm/nm
Calcein	472	500	1	1.5/1.5
	472	500	5	1.5/1.5
	488	508	1	1.5/1.5
	488	508	5	1.5/1.5
	498	516	1	1.5/1.5
	498	516	5	1.5/1.5
Phenylfluoron	500	535	1	3.0/3.0
Morin	440	506	1	3.0/3.0
Salicylaldehyd-Thio- carbohydrazon	380	450	1	3.0/5.0
	380	470	1	3.0/5.0
Thiophenaldehyd-Thio- carbohydrazon	400	495	1	3.0/5.0
8-Hydroxy-5-Sulfon- säure-Chinolin	365	526	1	3.0/5.0
4-Amino-2,2'-Dihydroxy- -5'-Sulfonsäure-Azo- benzol	515	565	10	3.0/3.0

### 3.2 Arraysimulation

Es wurden Mischungen durch Pipettieren entsprechender Aliquote der Aluminium-, Zink-, Kupfer- und Chrom-Stammlösungen in einen 100 ml Meßkolben und Auffüllen mit 0.1 n NaClO<sub>4</sub> (Tab. 4a) bzw. Acetatpuffer (Tab. 4b) hergestellt.

Tab. 4a: Zusammensetzung der Mischungen für das simulierte Array zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer

Nr.	Al mg/l	Zn mg/l	Cu mg/l	pH
1	0.000	0.000	0.000	4.7
2	0.032	0.065	0.000	4.7
3	0.016	0.032	0.003	4.7
4	0.016	0.065	0.003	4.7
5	0.016	0.323	0.003	4.7
6	0.016	0.645	0.003	4.7
7	0.032	0.000	0.003	4.7
8	0.032	0.032	0.003	4.7
9	0.032	0.065	0.003	4.7
10	0.032	0.323	0.003	4.7
11	0.032	0.645	0.003	4.7
12	0.000	0.065	0.016	4.7
13	0.000	0.323	0.016	4.7
14	0.161	0.032	0.016	4.7
15	0.161	0.065	0.016	4.7
16	0.016	0.006	0.032	4.7
17	0.016	0.065	0.032	4.7
18	0.016	0.323	0.032	4.7
19	0.016	0.645	0.032	4.7
20	0.032	0.032	0.032	4.7
21	0.032	0.065	0.032	4.7
22	0.032	0.323	0.032	4.7
23	0.032	0.645	0.032	4.7
24	0.000	0.065	0.032	4.7

Tab. 4b: Zusammensetzung der Mischungen für das simulierte Array zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer mit chemischer Interferenz (Nr. 25 - 56) und zusätzlich mit Matrixeffekt (Nr. 25 - 67)

Nr.	Al mg/l	Zn mg/l	Cu mg/l	Cr mg/l	pH
25	0.01	0.01	0.00	0.00	4.7
26	0.01	0.05	0.01	0.00	4.7
27	0.05	0.01	0.00	0.00	4.7
28	0.05	0.05	0.01	0.00	4.7
29	0.10	0.01	0.05	0.00	4.7
30	0.10	0.05	0.01	0.00	4.7
31	0.10	0.01	0.00	0.00	4.7
32	0.01	0.10	0.01	0.00	4.7
33	0.05	0.10	0.05	0.00	4.7
34	0.10	0.10	0.05	0.00	4.7
35	0.05	0.01	0.01	0.00	4.7
36	0.05	0.00	0.05	0.00	4.7
37	0.05	0.05	0.00	0.00	4.7
38	0.00	0.01	0.01	0.00	4.7
39	0.10	0.00	0.00	0.00	4.7
40	0.10	0.10	0.01	0.50	4.7
41	0.20	0.10	0.01	0.00	4.7
42	0.20	0.00	0.01	0.10	4.7
43	1.00	0.50	0.05	0.10	4.7
44	1.00	1.00	0.00	1.00	4.7
45	1.00	0.10	0.01	0.00	4.7
46	0.20	0.50	0.01	1.00	4.7
47	1.00	0.00	0.05	0.00	4.7
48	1.00	0.10	0.01	0.10	4.7
49	0.00	0.10	0.00	0.00	4.7
50	0.00	0.41	0.01	0.00	4.7
51	0.00	1.00	0.01	0.10	4.7
52	0.80	0.10	0.10	0.00	4.7
53	0.00	0.40	0.10	0.00	4.7
54	0.80	0.20	0.20	0.00	4.7
55	0.80	0.40	0.10	0.10	4.7
56	0.00	0.00	0.20	0.00	4.7
57	0.05	0.01	0.00	3.00	4.7
58	0.10	0.00	0.00	0.00	5.4
59	0.00	0.10	0.00	0.00	5.4
60	0.50	0.00	0.05	0.10	5.4
61	0.50	0.50	0.01	0.00	5.4
62	0.00	0.50	0.01	0.00	5.4
63	0.10	0.00	0.00	0.00	4.4
64	0.00	0.10	0.00	0.00	4.4
65	0.50	0.00	0.05	0.10	4.4
66	0.50	0.50	0.01	0.00	4.4
67	0.00	0.50	0.01	0.00	4.4

Jede Mischung wurde mit jedem Komplexbildner gemessen. Die Meßbedingungen sind in Tabelle 3 aufgeführt. Zur Auswertung mit dem PLS - Algorithmus wurde das

Programm Unscrambler (CAMO, Trondheim, Norwegen) verwendet. Zur Ausreiseranalyse (F - Test, leverage) wurde ein Programm erstellt. Die "leverage" der Proben wurden den Datenfiles entnommen, die das Programm Unscrambler ablegt.

Die Arrayoptimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit wurde mit einem selbsterstellten Programm durchgeführt. Zur Optimierung nach minimalem Fehler wurde ebenfalls das Programm Unscrambler verwendet und die Optimierungsgröße aus den Residuals berechnet (Kap. 4.4.2).

### 3.3 Thermogravimetrie

Die Thermogramme wurden mit der Thermowaage (Netsch, Typ STA 409) aufgenommen. Zunächst wurde bis 130 °C mit einer Rate von 10 K/min. geheizt und die Proben temperatur 1 Stunde konstant gehalten. Danach wurde mit 5K/min. bis 730 °C geheizt und die Temperatur 3 Stunden konstant gehalten.

### 3.4 Verbrennungsanalyse

Die Bestimmung des Kohlenstoffgehaltes der silanisierten Glaspulver wurde mit dem Coulomat (Ströhlein, Typ 701) durchgeführt.

### 3.5 Synthesen

Die IR - Spektren der Synthesenprodukte befinden sich im Anhang 6.3. Sie wurden mit einem FT-IR - Spektrometer (Nicolet, Typ 20 DXB) gemessen.

#### 3.5.1 Amino - Calcein

Amino-Calcein wurde nach einer Vorschrift zur Synthese von Calcein /38/ dargestellt, wobei das Edukt Fluorescein durch Amino-Fluorescein ersetzt wurde (0.01 molarer Ansatz). Gemäß Literaturvorschrift sollte das Rohprodukt durch Ansäuern mit 0.1 n HCl bei pH 3.5 ausgefällt werden. Amino-Calcein fiel jedoch erst bei pH 2.5 aus. Der Niederschlag war schlecht filtrierbar. Zur Reinigung wurde das Rohprodukt in heißem 70%igem Ethanol gelöst und der unlösliche Rückstand sofort ab-

filtriert. Nach dem Abkühlen wurde ein hellbrauner, amorpher Niederschlag erhalten, der zweimal aus 60%igem Ethanol umkristallisiert wurde.

### 3.5.2 Amino-Phenylfluoron

Zur Darstellung von Amino-Phenylfluoron wurde zunächst 3'-Nitro-2,3,7-Trihydroxy-9-Phenylfluoron (Nitro-Phenylfluoron) nach /39/ synthetisiert (0.12 molarer Ansatz). Die Reduktion der Nitrogruppe zur Aminogruppe wurde in Anlehnung an /40/ mit  $\text{Na}_2\text{S}$  durchgeführt. 2.8 g Nitrophenylfluoron wurde in siedendem 95%igem Ethanol gelöst, mit 5.5 g wässriger ca. 50%iger  $\text{Na}_2\text{S}$  - Lösung versetzt und 60 Minuten rückflusiert. Nach eintägigem Stehen wurde das Rohprodukt mit konz. HCl gefällt, filtriert und in 1 n NaOH gelöst. Zur Abtrennung von nicht umgesetztem Nitro-Phenylfluoron wurde die alkalische Lösung des Rohproduktes mit konz. HCl bis zur Bildung eines Niederschlags versetzt. Das Filtrat wurde mit Ammoniumacetat gepuffert, worauf sich ein rotbrauner, voluminöser Niederschlag bildete. Dieser wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und über Phosphorpentoxid getrocknet.

### 3.5.3 4-Amino-5'-Sulfonsäure-2,2'-Dihydroxy-Azobenzol

4-Amino-5'-Sulfonsäure-2,2'-Dihydroxy-Azobenzol wurde nach /41/ durch Azokupplung von 3-Amino-Phenol mit diazotiertem 2-Amino-4-Sulfonsäure-Phenol in acetatsaurem Medium synthetisiert und ohne weitere Reinigung verwendet.

### 3.5.4 5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin

5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin wurde durch Reduktion von 8-Hydroxy-5-Nitro-Chinolin nach /40/ dargestellt. Das Rohprodukt wurde zweimal aus 1 n HCl umkristallisiert, wobei feine orangefarbene Nadeln erhalten wurden.

### 3.5.5 Bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon

Zunächst wurde Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon nach /42/ dargestellt. Anschließend wurde diese Vorstufe nach einer modifizierten Vorschrift /43/ durch Aminomethylierung zu einem zur Immobilisierung geeigneten Derivat umgesetzt. 1.1 g Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon wurden in 50 ml Tetrahydrofuran gelöst und unter Rühren und Kühlen mit einer Mischung, bestehend aus 0.11g 37%iger Formaldehydlösung und 0.2 ml Methylamin, versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 65 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen, mit 0.1 n NaOH alkalisiert und der

orangefarbene Niederschlag abfiltriert. Er wurde über KOH getrocknet und ohne weitere Reinigung verwendet.

### 3.5.6 Bis-(N-Methyl)-Aminomethyl-Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon

Zunächst wurde Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon nach /42/ synthetisiert. Die Aminoalkylierung wurde in Anlehnung an /44/ durchgeführt. 1.8 g Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon wurden in 200 ml methanolhaltigem Tetrahydrofuran gelöst. Unter Rühren und Kühlen wurde eine Mischung aus 0.4 ml Methylamin, 0.8 ml 37%iger wässriger Formaldehydlösung und 1.3 ml Eisessig zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde nach 60 Stunden mit 1 n NaOH bis zur Entstehung eines Niederschlages alkalisiert. Das Produkt wurde abfiltriert, über KOH getrocknet und ohne weitere Reinigung verwendet.

## 3.6 Immobilisieren der Komplexbildner

### 3.6.1 Silanisierung von Glaspulver

#### 3.6.1.1 Präparation von (N-Ethylisothiocyanat)-3-Propylamin-CPG

Die Silanisierung wurde nach einer modifizierten Vorschrift /21/ durchgeführt. 3.5 g Controlled porous glass (CPG) wurden in 150 ml Toluol p.a. unter Rühren auf 80°C erhitzt. Die Suspension wurde mit trockenem Stickstoff gespült bis die Reaktionstemperatur erreicht war. Nach Zugabe von 1.632 g (N-Ethylamin)-3-Propylamin-Triethoxysilan wurde bei 80°C 4 Stunden gerührt. Das CPG wurde abgenutscht, mit 50 ml Toluol und 100 ml Aceton gewaschen und bei 90°C 4 Stunden getrocknet. Das physisorbierte Silan wurde durch 4 tägige Heißextraktion mit Methanol entfernt.

Die Umsetzung der primären Aminogruppe des organischen Restes des Silans zur Isothiocyanatgruppe erfolgte nach /45/ mit Thiophosgen.

#### 3.6.1.2 Präparation von 1,2-Dihydroxy-Ethyl-Propylether--Triethoxysilan-CPG

Die Silanisierung mit 3-Epoxy-Propyloxy-Triethoxysilan wurde wie in Kapitel 3.6.1.1 durchgeführt. Anschließend wurde das Epoxid durch eintägiges Rühren des silani-

sierten CPG in 2 n HCl zum Diol hydrolysiert. Das Produkt wurde abgenutscht, mit 100 ml bidestilliertem Wasser sowie 100 ml Methanol gewaschen und bei 70°C getrocknet.

### 3.6.2 Immobilisierung von Amino-Calcein

37.6 mg Amino-Calcein wurden in 5 ml Phosphatpuffer pH 8.0 gelöst. Der Phosphatpuffer wurde nach /37/ hergestellt. Es wurden 68.8 mg (N-Ethylisothiocyanat)-3-Propylamin-CPG zugegeben und 30 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wurde abgenutscht, mit 500 ml bidestilliertem Wasser gewaschen und 3 Tage mit Aceton heißextrahiert.

### 3.6.3 Immobilisierung von Calcein

467 mg Calcein wurden in 50 ml Eisessig bei 100°C gelöst. Es wurden 353 mg 1,2-Dihydroxy-Ethyl-Propylether-Triethoxysilan-CPG und 10 ml konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zugesetzt und 12 Stunden bei 100°C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf 200 ml Eiswasser gegossen. Anschließend wurde das Produkt abgenutscht, mit 200 ml bidestilliertem Wasser gewaschen und 3 Tage mit Aceton heißextrahiert.

### 3.6.4 Immobilisierung von Morin

Analog zu Kapitel 3.6.3 wurden 446 mg Morin in 100 ml Eisessig bei 100°C gelöst, 531 mg 1,2-Dihydroxy-Ethyl-Propylether-Triethoxysilan-CPG, 10 ml konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zugegeben und 16 Stunden bei 100°C gerührt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie in Kapitel 3.6.3. Das Produkt wurde 3 Tage mit Ethanol heißextrahiert.

### 3.6.5 Immobilisierung von Amino-Phenylfluoron

662 mg Amino-Phenylfluoron wurden in 10 ml 0.1 n NaOH gelöst. Nach Zugabe von 10 ml Boratpuffer pH 8.0 /37/ wurde filtriert. Zum Filtrat wurden 934 mg (N-Ethylisothiocyanat)-3-Propylamin-CPG zugesetzt und 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wurde abgenutscht, mit 0.01 n NaOH gewaschen und 2 Tage mit Aceton heißextrahiert.

### 3.6.6 Immobilisierung von 5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin

Zu einer gesättigten Lösung von 5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin in H<sub>2</sub>O (pH 7.5) wurden 204 mg (N-Ethylisothiocyanat)-3-Propylamin-CPG gegeben und 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde 2 Stunden auf 70 °C erhitzt und heiß filtriert. Das Produkt wurde mit Wasser und Aceton gewaschen und 3 Tage mit Aceton heißextrahiert.

### 3.6.7 Immobilisierung von 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

Zu einer gesättigten Lösung von 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol in Wasser wurde 1 g (N-Ethylisothiocyanat)-3-Propylamin-CPG gegeben und 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Abnutschen des Produktes wurde mit Wasser gewaschen und 2 Tage mit Methanol heißextrahiert.

### 3.6.8 Immobilisierung von bis-(N-Methyl)-Aminomethyl-Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon und bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon

Jeweils 10 mg der Komplexbildner wurden in siedendem Wasser (pH 7.5) gelöst, je 200 mg (N-Ethylisothiocyanat)-3-Propylamin-CPG zugegeben und 16 Stunden rückflusiert. Das Produkt wurde heiß abgenutscht und mit 500 ml heißem Ethanol gewaschen.

### 3.6.9 Immobilisierung von Fluoresceinisothiocyanat /46/

Zu einer gesättigten Lösung von Fluoresceinisothiocyanat (Fluka) in Phosphatpuffer pH 6.88 (Merck) wurden 500 mg (N-Ethylamino)-3-Propylamin-CPG gegeben und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wurde abfiltriert, mit 200 ml H<sub>2</sub>O gewaschen und 2 Tage heißextrahiert (Methanol).

### 3.7 Fluorimetrische Messungen mit Sensoren

Das CPG mit dem jeweiligen Komplexbildner wurde mit Silikonkautschuk E41 (Wacker, München) auf Glasplatten (13x25 mm) fixiert. Nach dem Aushärten des Silikonkautschuks wurden die Glasplatten mit Epoxidharz in Acrylküvetten (Sarstedt) befestigt. Zur Aufnahme der Eichkurven wurde in die den Sensor enthaltende Küvette die Eichlösung gefüllt und die Fluoreszenz gemäß Abb. 10 gemessen. Die Eichlösungen wurden durch Verdünnen entsprechender Aliquote der Metallion - Stammlösungen mit Acetatpuffer pH 4.7 hergestellt. Für den bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor wurden Eichlösungen in 50%igem Ethanol hergestellt. Nach jeder Messung einer Eichlösung wurde der Blindwert in Acetatpuffer pH 4.7 gemessen.

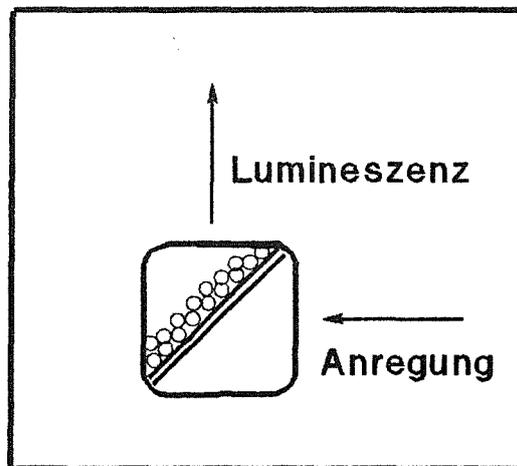


Abb. 10: Meßanordnung zur Messung der Sensoren

### 3.8 Sensorarray

Die Mischungen wurden wie in Kapitel 3.2 beschrieben hergestellt. Die Zusammensetzungen der Mischungen sind in Tab. 6, die Meßbedingungen in Tab. 7 aufgeführt. Jede Mischung wurde wie in Kapitel 3.5 beschrieben mit einem Morin -, einem bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl -Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - und einem Fluorescein - Sensor gemessen.

Tab. 6: Zusammensetzung der Proben für das Sensorarray

Nr.	Aluminium mg/l	Zink mg/l	Chrom mg/l	pH
1	0.00	0.00	0.0	4.7
2	0.00	10.00	0.0	4.7
3	0.00	30.00	1.0	4.7
4	1.00	0.00	0.0	4.7
5	1.00	10.00	1.0	4.7
6	1.00	30.00	0.0	4.7
7	3.00	0.00	1.0	4.7
8	3.00	10.00	0.0	4.7
9	3.00	27.00	5.0	4.7
10	1.00	30.00	0.0	5.4
11	1.00	30.00	0.0	4.4

Tab. 7: Meßbedingungen für das Sensorarray

Sensor	Anregung nm	Emission nm	Spaltbreite Ex. / Em. nm	Zeit min.
Morin-Sensor	440	506	3 / 3	1
	440	506	3 / 3	5
SATC	390	450	3 / 5	1
	390	470	3 / 5	1
FITC	488	520	3 / 3	1

SATC: bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor

FITC: Fluorescein - Sensor

#### 4. Ergebnisse und Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die Selektivität der einzelnen Sensoren auf das Meßion zu erhöhen. Dies kann erreicht werden durch Kombination von mehreren Sensoren zu einem Sensorarray mit nachfolgender multivariater Kalibration. Voraussetzung hierfür ist, daß für jede in der Analysenlösung möglicherweise vorhandene Komponente ein hauptsächlich auf diese Komponente ansprechender Sensor im Sensorarray vorhanden ist. Auf diese Weise kann der Nachteil der fehlenden Selektivität der einzelnen chemischen Sensoren kompensiert werden. Zusätzlich ist die Möglichkeit der Eliminierung von Matrixeffekten gegeben.

Da die Herstellung von Sensoren präparativen Aufwand erfordert, und gleichzeitig die Eigenschaften der Sensoren in großem Maße von der Art des immobilisierten Nachweisreagenz abhängen, sollte die erste Auswahl der Komplexbildner anhand von Messungen in Lösung vorgenommen werden. Dabei blieb zunächst die eventuelle Veränderung der Eigenschaften des Nachweisreagenz nach dessen Immobilisierung unberücksichtigt.

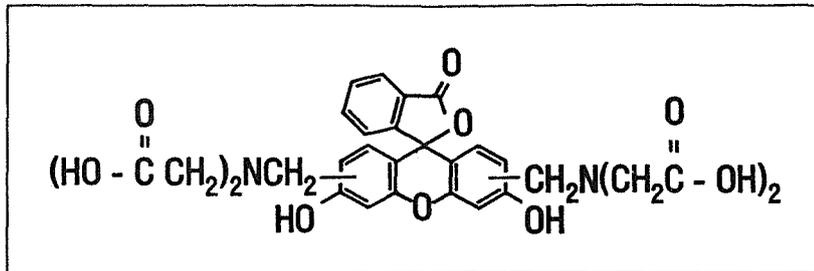
Die bekannten Verfahren der multivariaten Kalibration wurden bisher nur für komplette Spektren angewendet. Überträgt man diese auf ein Sensorarray mit einzelnen Meßwerten, so geht damit ein Verlust an Information einher. Es war zu überprüfen, ob mit wenigen, aber gezielt ausgewählten Informationen (Meßwerten) die multivariate Kalibration dennoch realisierbar ist. Dabei sind im Hinblick auf spätere praktische Applikationen folgende Fragen von Bedeutung:

- Reicht nur jeweils ein "Hauptsensor" pro Komponente aus oder ist eine Überbestimmung, d.h. mehr chemische Sensoren als Komponenten notwendig ?
- Kann der Einfluß von Matrixeffekten eliminiert werden ?
- Kann der Einfluß von nicht direkt meßbaren, aber interferierenden Komponenten eliminiert werden ?
- Werden falsche Proben im Kalibrationsdatensatz bzw. bei Anwendung des Sensorarrays auf Proben mit unbekannter Zusammensetzung erkannt ?
- Kann die Vorauswahl der chemischen Sensoren für ein Sensorarray allein aufgrund des Verhaltens der Nachweisreagenzien in Lösung getroffen werden ?

Diese grundlegenden Fragen wurden zunächst anhand verschiedener Arraysimulationen mit Komplexbildnern als Nachweisreagenzien in Lösung geklärt. Im Hinblick auf eine mögliche praktische Anwendungen (Spül - bzw. Abwässer eines Galvanikbetriebes) wurden die Arraysimulationen zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer in Gegenwart von Chrom und bei verschiedenen pH Werten durchgeführt.

## 4.1 Erste Auswahl geeigneter Komplexbildner

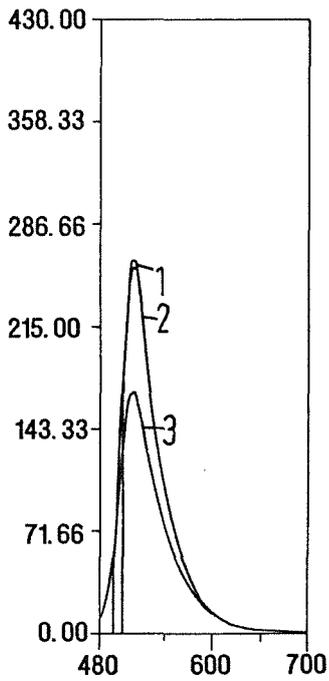
### 4.1.1 Calcein



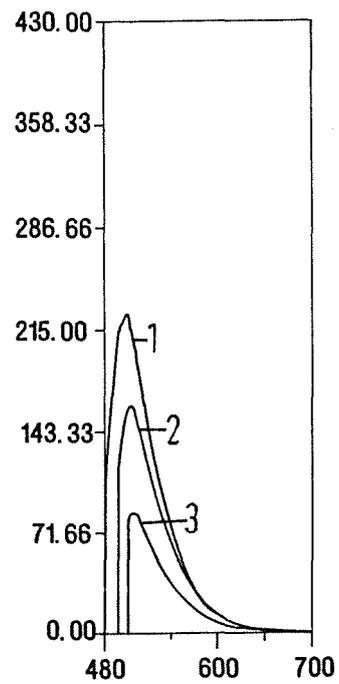
Die hohe Fluoreszenzquantenausbeute des Calceins läßt für einen Sensor, der auf diesem Komplexbildner basiert, eine große Empfindlichkeit erwarten. Calcein besitzt ein Anregungsmaximum bei 498 nm und ein Emissionsmaximum bei 516 nm. Zink und Aluminium bilden fluoreszierende Komplexe mit Calcein. Die Anregungs- und Emissionsspektren sind gegenüber des freien Calceins zu kürzeren Wellenlängen verschoben.

Für den Aluminium - Komplex liegt das Anregungsmaximum bei 472 nm, das Emissionsmaximum bei 500 nm (Abb. 11b). Der Zink - Komplex hat sein Anregungsmaximum bei 488 nm und das Emissionsmaximum bei 508 nm (Abb. 11c). Kupfer bildet einen nichtfluoreszierenden Komplex mit Calcein (Abb. 11d), und setzt somit die Eigenfluoreszenz von Calcein herab (statisches Quenchen). Chrom zeigt keinen Einfluß auf die Eigenfluoreszenz von Calcein.

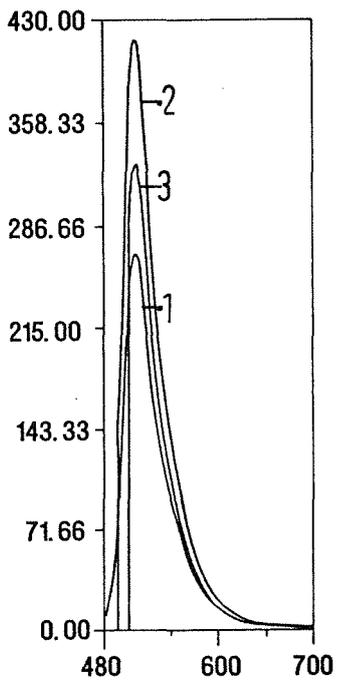
Die Emissionsmaxima der einzelnen Metallionkomplexe sind zwar verschieden, liegen jedoch so dicht beieinander, daß sich die Fluoreszenzspektren der Calcein - Komplexe für eine Mischung dieser Metallionen überlappen.



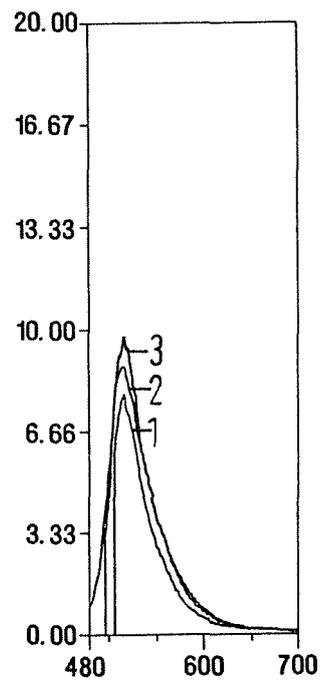
a) freies Calcein



b) Aluminium - Calcein - Komplex



c) Zink - Calcein - Komplex



Kupfer - Calcein - Komplex

Abb. 11 Fluoreszenzspektren der verschiedenen Calcein - Komplexe

1: Anregung bei 472 nm, 2: Anregung bei 488 nm, 3: Anregung bei 498 nm

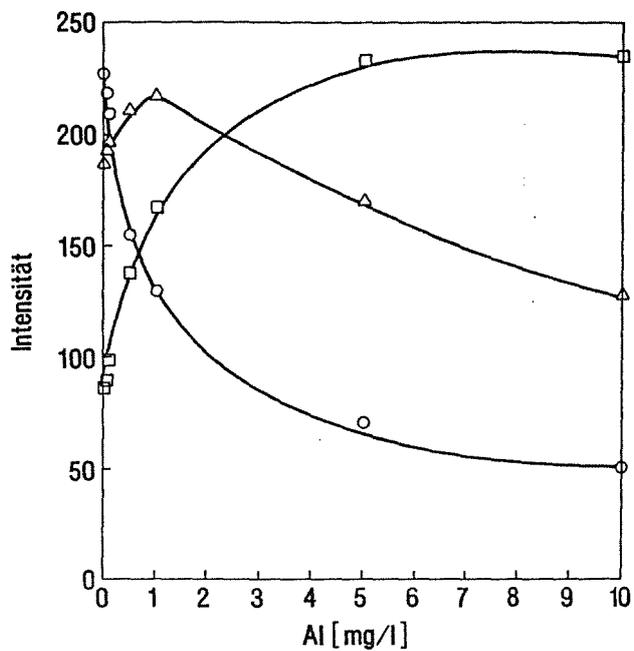
Abb. 12a-c zeigt die Eichkurven der Aluminium -, Zink - und Kupfer - Komplexe in Lösung. Für jedes Metallion wurde eine Eichkurve bei den für den Metallionkomplex optimalen Meßbedingungen erstellt. Zusätzlich wurde der Einfluß dieses Metallions auf die spektralen Bereiche der anderen Metallionkomplexe ermittelt, indem auch für diese Meßbedingungen Eichkurven aufgenommen wurden. Der Aluminium - Komplex (Abb. 12a) zeigt bei Anregung mit Licht der Wellenlänge 472 nm die größte Fluoreszenzintensität bei 500 nm. Die Eichkurve, gemessen unter diesen Bedingungen, hat die größte Steigung im dynamischen Bereich. Bei Anregung des freien Calceins mit Licht der Wellenlänge 498 nm nimmt die Fluoreszenzintensität bei 516 nm mit steigender Aluminium - Konzentration entsprechend der Abnahme des freien Calceins ab. Zwischen diesen beiden Extrema liegt die Eichkurve, die mit den für den Zink - Komplex repräsentativen Meßparametern ermittelt wurde. Sie zeigt zunächst einen schwach ausgeprägten Anstieg bis zu 1 mg/l Aluminium. Bei höheren Aluminium - Konzentrationen nimmt die Intensität des Fluoreszenzlichtes jedoch ab. Insgesamt spiegeln diese Eichkurven die Kinetik der Bildung des Aluminium - Komplexes wider. Das Maximum des Fluoreszenzspektrums verschiebt sich von 516 nm (Eigenfluoreszenz von Calcein) zu 500 nm (Aluminium - Komplex). Die Intensität bei 508 nm setzt sich aus der Fluoreszenz des Komplexes und derjenigen des Calceins zusammen. Ab 1 mg/l Aluminium dominiert die Fluoreszenz des Aluminium - Komplexes.

Die Eichkurve mit den optimalen Meßbedingungen für den Zink - Calcein - Komplex (488 nm Anregung/508 nm Emission) zeigt erwartungsgemäß die größte Steigung (Abb. 12b). Aufgrund der breiten Bande des Zink - Komplexes nimmt die Intensität, die bei den Meßparametern der anderen Komplexe gemessen wurde, in Abhängigkeit von der Zink - Konzentration ebenfalls zu, jedoch in geringerem Maße.

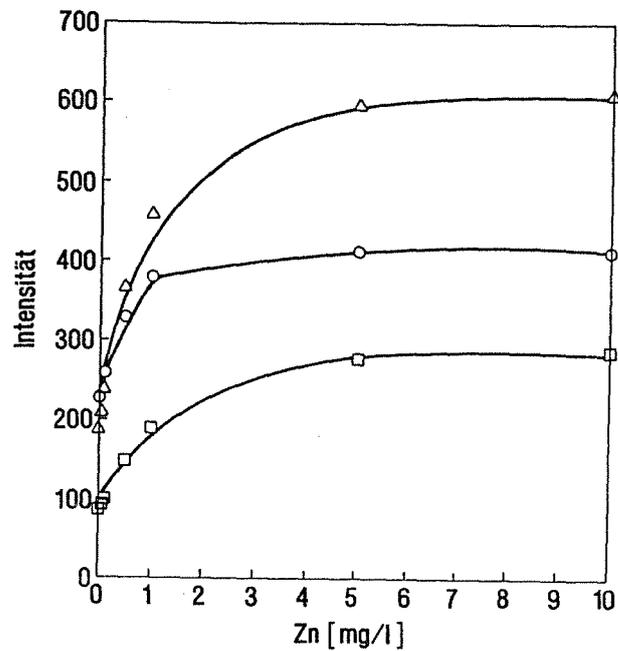
D.h. das Emissionsspektrum des Zink - Komplexes überlappt die spektralen Bereiche der Aluminium - und Kupfer - Komplexe.

Die Eichkurven für Kupfer zeigen unter allen Meßbedingungen negative Steigungen bei zunehmender Kupfer - Konzentration (Abb. 12c). Dies beruht auf der Bildung des nicht fluoreszierenden Kupfer - Komplexes. Da die Eichkurve bei 498 nm Anregung und 516 nm Emission die größte Steigung aufweist, wurden die Meßparameter für die Eigenfluoreszenz von Calcein als optimale Parameter für Kupfer gewählt.

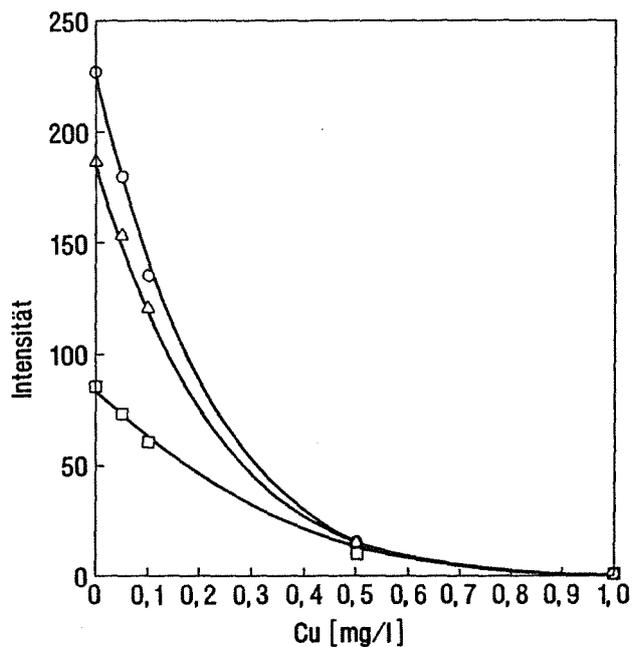
Die Messung der Aluminium -, Zink - und Kupfer - Komplexe ist somit bei verschiedenen Parametern möglich.



a) Aluminium



b) Zink



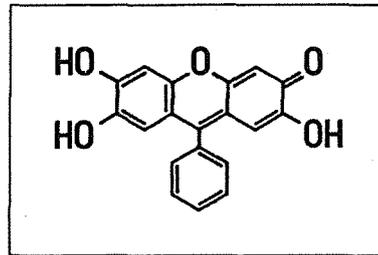
c) Kupfer

Abb. 12 Eichkurven der Aluminium -, Zink - und Kupfer - Komplexe

- Anregung 472 nm/Emission 500 nm
- △ Anregung 488 nm/Emission 508 nm
- Anregung 498 nm/Emission 516 nm

Zusätzlich ergeben sich für die Komplexe kinetisch bedingte Unterschiede. Die Komplexbildungszeit beträgt für den Aluminium - Komplex ca. fünf Minuten, für die Zink - und Kupfer - Komplexe weniger als eine Minute. Bei Messung der für die Aluminium -, Zink - und Kupfer - Komplexe repräsentativen Fluoreszenzspektren nach jeweils einer und fünf Minuten ergeben sich demzufolge sechs Informationen (Meßwerte) über die Probenlösung mit dem Komplexbildner Calcein.

#### 4.1.2 Phenylfluoron



Phenylfluoron weist eine Eigenfluoreszenz auf, die, mit Licht der Wellenlänge 500 nm angeregt, ihr Emissionsmaximum bei 535 nm hat. Der Einfluß von Aluminium, Zink, Kupfer und Chrom auf die Fluoreszenz von Phenylfluoron ist in Abb. 13 dargestellt. Es wird keine Verschiebung der Anregungs - oder Emissionsspektren beobachtet, so daß grundsätzlich bei 500 nm angeregt und die Fluoreszenzintensität bei 535 nm gemessen wurde.

In Abb. 14 ist die Intensität des Fluoreszenzlichtes bei 535 nm für alle Metallionkomplexe in Abhängigkeit von der jeweiligen Konzentration aufgetragen.

Aluminium zeigt bis 1 mg/l nur eine geringe Einflußnahme auf die Fluoreszenz von Phenylfluoron. Bei Konzentrationen oberhalb von 1 mg/l Aluminium bildet sich ein fluoreszierender Komplex aus, die Intensität nimmt zu. Zink schwächt die Fluoreszenz von Phenylfluoron nur in geringem Maß. Dagegen quencht Kupfer die Phenylfluoron - Fluoreszenz. Chrom bildet mit Phenylfluoron einen fluoreszierenden Komplex.

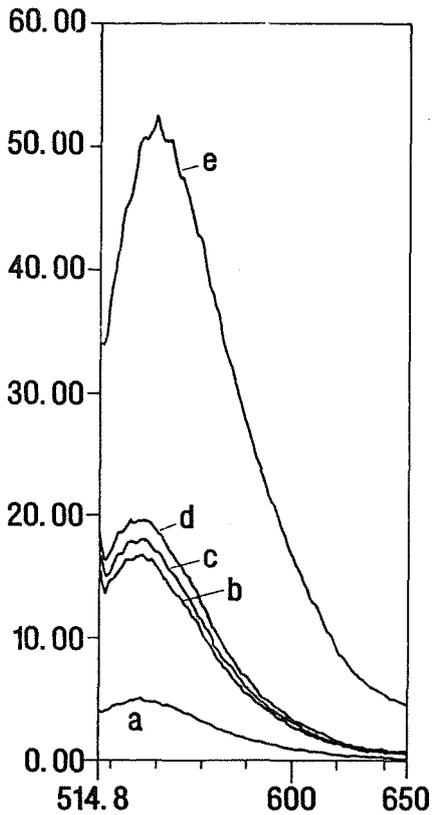


Abb. 13 Fluoreszenzspektren der Phenyl-  
fluoron-Komplexe  
a: 5 mg/l Kupfer  
b: 0.5 mg/l Aluminium  
c: 5 mg/l Zink  
d:Blindspektrum  
e: 5 mg/l Chrom

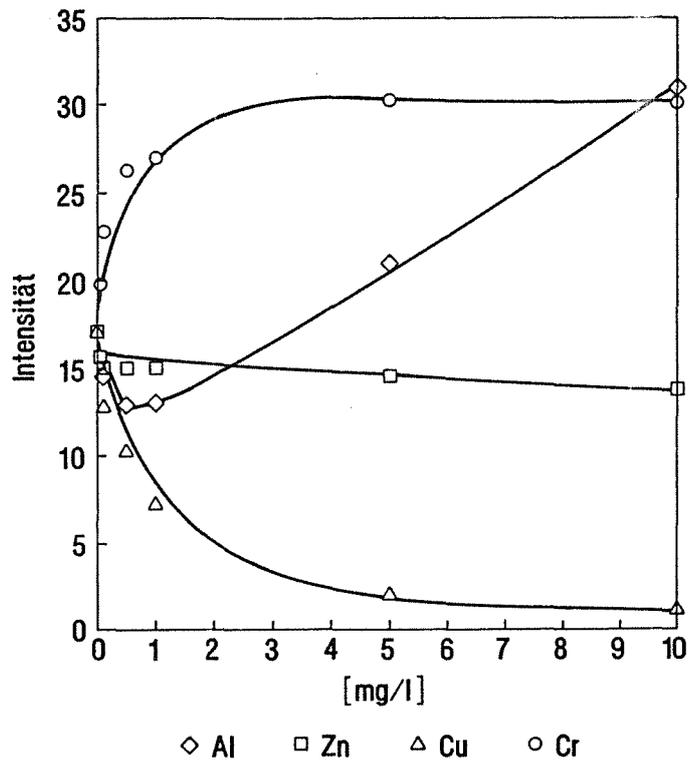
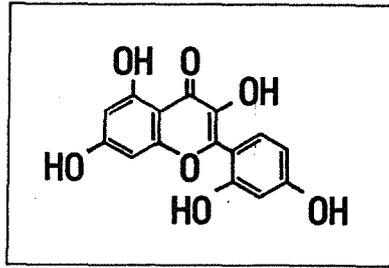


Abb. 14 Eichkurven für Aluminium,  
Zink , Kupfer und Chrom  
Anregung 500 nm  
Emission 535 nm

4.1.3 Morin

Der Morin - Aluminium - Komplex besitzt bei Anregung bei 440 nm ein Emissionsmaximum bei 506 nm (Abb. 15). Morin selbst weist kaum Eigenfluoreszenz auf. Zink bildet mit Morin ebenfalls einen fluoreszierenden Komplex, jedoch bevorzugt bei ca. pH 8. Kupfer und Chrom verursachen keine Fluoreszenz mit Morin.

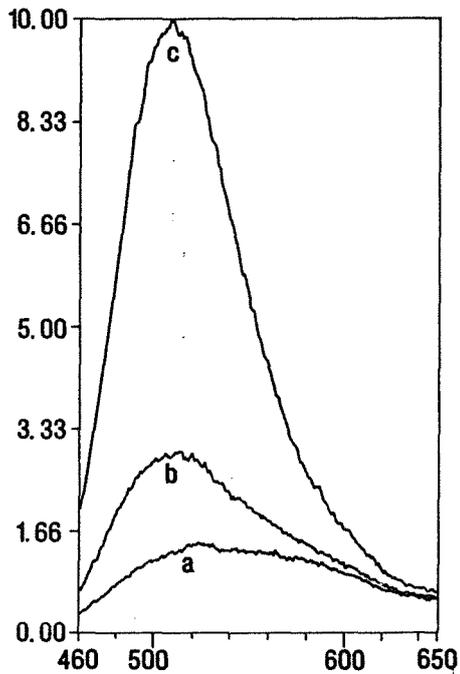


Abb. 15 Fluoreszenzspektrum des Aluminium - Morin - Komplex

a: Blindspektrum

b: 100 mg/l Zink

c: 0.5 mg/l Aluminium

Abb. 16 zeigt die Eichkurve für den Aluminium - Komplex und die Interferenzen von Zink, Kupfer und Chrom auf den Aluminium - Komplex. Der Zink - Morin - Komplex fluoresziert ebenfalls, jedoch ist bei pH 4.7 die Komplexbildungskonstante so klein, daß die Fluoreszenz bis 10 mg/l Zink nicht meßbar ist. Deshalb wurde der Einfluß von Zink auf den Aluminium - Morin - Komplex bestimmt, indem die Zink - Konzentration in Gegenwart von 1 mg/l Aluminium variiert wurde. Wie Abb. 16 zeigt, kann die Störung durch Zink bei Messung der Aluminium - Morin - Fluoreszenz vernachlässigt werden.

Zur Ermittlung der Störeinflüsse von Kupfer und Chrom auf die Fluoreszenz des Aluminium - Morin - Komplexes wurden die Kupfer - und Chrom - Konzentrationen jeweils in Gegenwart von 1 mg/l Aluminium variiert. In Abb. 16 ist die Emission bei 506 nm gegen die Konzentration von Kupfer bzw. Chrom aufgetragen. Chrom stört die Bestimmung von Aluminium bis zu einem zehnfachen Überschuß nicht. Dagegen verringert Kupfer ab 1 mg/l in Gegenwart von 1 mg/l Aluminium die Fluoreszenzintensität des Aluminium - Morin - Komplexes deutlich.

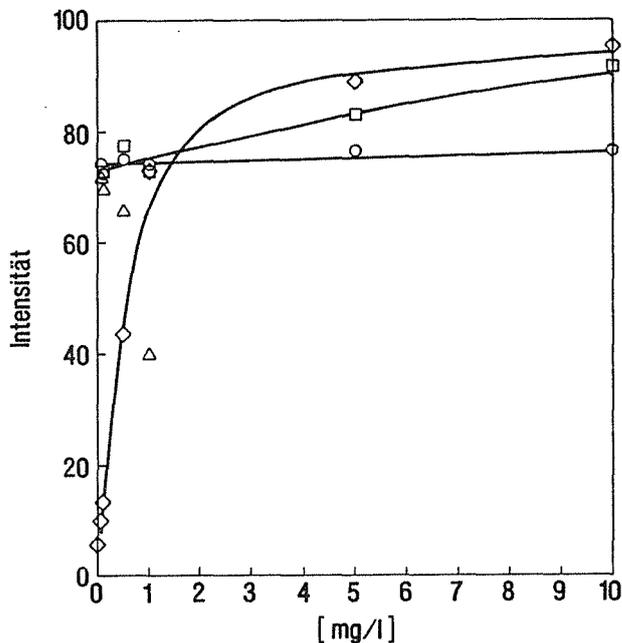
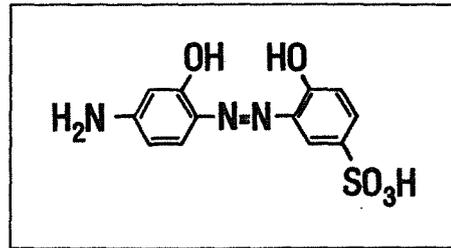


Abb. 16 Eichkurve für Aluminium (◇)

Interferenzen von Zink (□), Kupfer (△) und Chrom (○) auf den Aluminium - Morin - Komplex in Gegenwart von 1 mg/l Aluminium

4.1.4 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

Aluminium bildet mit 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol einen stark fluoreszierenden Komplex, dessen Anregungsmaximum bei 515 nm und Emissionsmaximum bei 565 nm liegt (Abb. 17). Die große Empfindlichkeit dieses Nachweisreagens auf Aluminium zeigt die Eichkurve in Abb. 18.

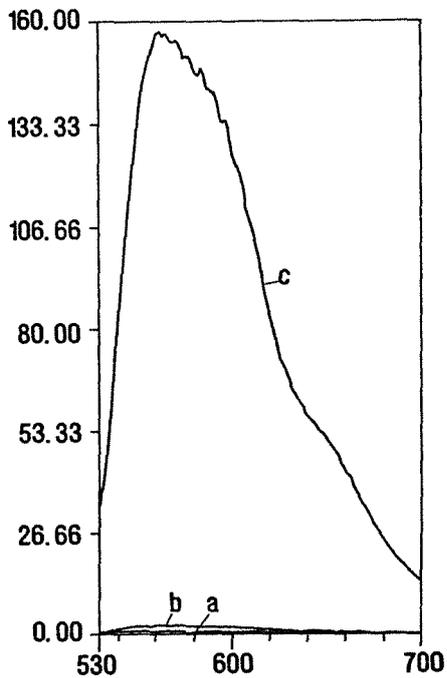


Abb. 17 Fluoreszenzspektrum der 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol-Komplexe  
a: Blindspektrum  
b: 1 mg/l Zink  
c: 1 mg/l Aluminium

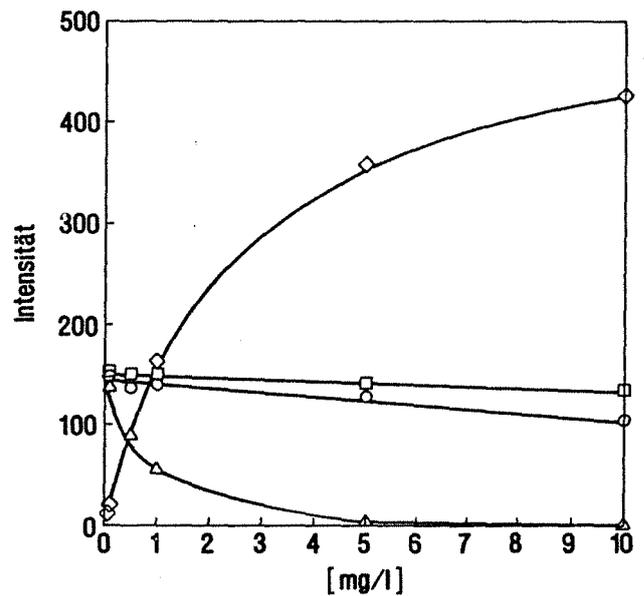
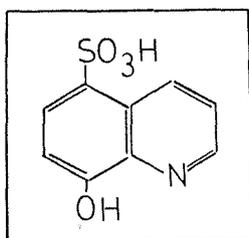


Abb. 18 Eichkurve von Aluminium (◇)  
Interferenzen von Zink (□),  
Kupfer (△) und Chrom (○)  
in Gegenwart von 1 mg/l Aluminium

4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol selbst fluoresziert nicht. Da Zink, Chrom und Kupfer keine fluoreszierenden Komplexe mit 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol bilden, weshalb ein möglicher Einfluß auf den Aluminium - Komplex nicht direkt beobachtet werden kann, wurde auch hier den Lösungen jeweils 1 mg/l Aluminium zugesetzt. Aus Abb. 18 ist ersichtlich, daß weder Zink noch Chrom die Aluminium - 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol - Komplexbildung interferieren. Kupfer bildet einen nichtfluoreszierenden Komplex mit 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol mit großer Komplexbildungskonstante. Entsprechend stark wird die Fluoreszenz des Aluminium - 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol - Komplexes durch konkurrierende Komplexbildung mit Kupfer vermindert.

#### 4.1.5 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin



Die Aluminium - und Zink - Komplexe fluoreszieren am intensivsten bei 526 nm, angeregt durch Licht der Wellenlänge 365 nm. 8 - Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin selbst weist keine Eigenfluoreszenz auf (Abb. 19). Chrom und Kupfer bilden keine fluoreszierende Komplexe.

Abb. 20 zeigt die Abhängigkeit der Emission von der jeweiligen Konzentration des Metallions. Aus den Steigungen der Eichkurven ist ersichtlich, daß 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin empfindlicher auf Aluminium anspricht als auf Zink. Die Beobachtung der Interferenz von Chrom und Kupfer wurde in Lösungen mit 1 mg/l Zink untersucht. Die erhaltenen Kurven (Abb. 20) zeigen den geringen Einfluß von Kupfer bis 5 mg/l Kupfer in Gegenwart von 1 mg/l Aluminium. Chrom zeigt über den gesamten gemessenen Konzentrationsbereich nur geringe Interferenz.

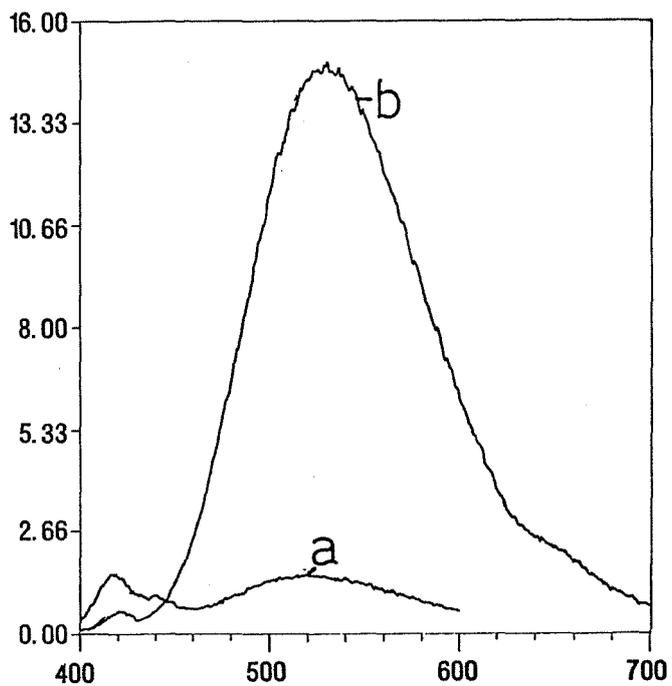


Abb. 19 Fluoreszenzspektrum des  
Zink - 8-Hydroxy-5-Sulfon-  
säure-Cinolin-Komplexes  
a: Blindspektrum  
b: 5 mg/l Zink

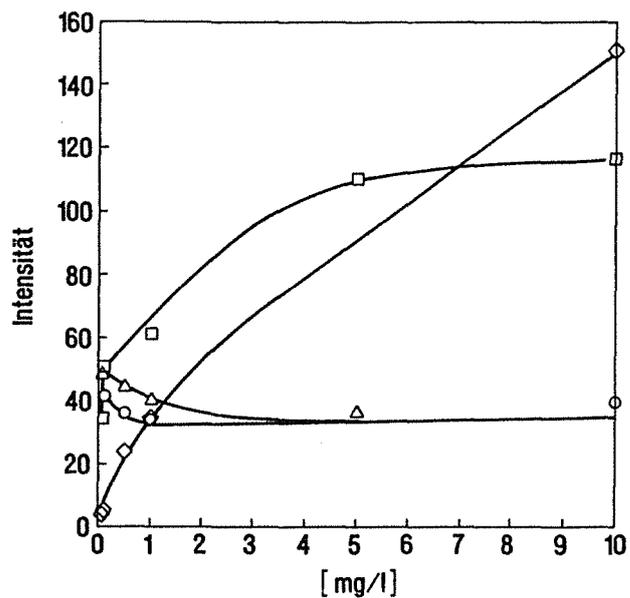
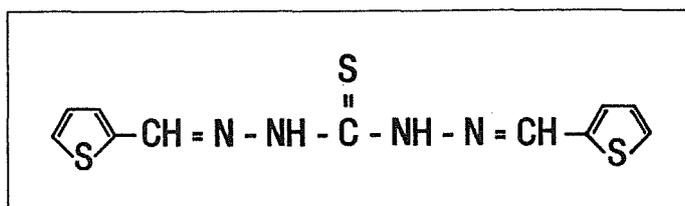


Abb. 20 Eichkurven von Alumi-  
nium (◇) und Zink (□).  
Interferenzen von Kup-  
fer (△) und Chrom (○)  
in Gegenwart von 1 mg/l Zink

## 4.1.6 Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon



Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon bildet einen stark fluoreszierenden Komplex mit Zink, nicht jedoch mit Aluminium, Kupfer oder Chrom und weist selbst keine Eigenfluoreszenz auf (Abb. 21). Die Messung der Interferenzen der anderen Metallionen auf das Meßsignal des Zink - Komplexes wurden an Lösungen mit 1 mg/l Zink vorgenommen. Abb. 22 zeigt, daß weder Aluminium noch Chrom die Zink - Komplexbildung stören. Dagegen bildet Kupfer nichtfluoreszierende Komplexe, die eine deutlich sichtbare Verringerung der Emission des Zink - Komplex bewirken.

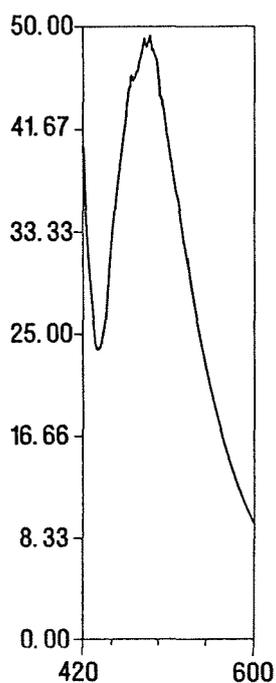


Abb. 21 Fluoreszenzspektrum des Zink - Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon-Komplexes

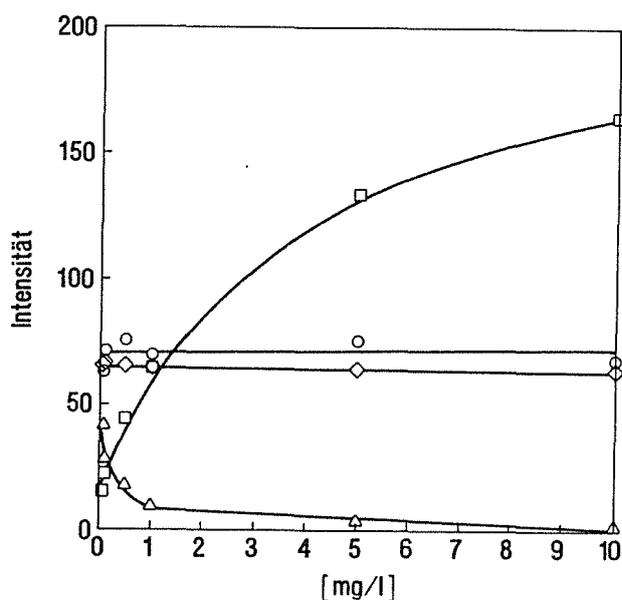
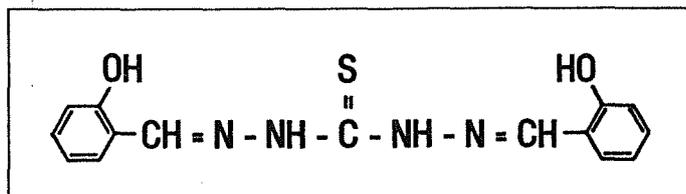


Abb. 22 Eichkurven für Zink (□) Interferenzen von Aluminium (◇), Kupfer (△) und Chrom (○)

#### 4.1.7 Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon



Sowohl Aluminium als auch Zink bilden mit Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon fluoreszierende Komplexe, nicht jedoch Kupfer und Chrom. Die Maxima der Anregungsspektren sind für beide Elemente gleich. Die Maxima der Emissionsspektren unterscheiden sich jedoch, wodurch eine Auswertung der Fluoreszenzspektren von Mischungen der Metallionen bei zwei Emissionswellenlängen möglich ist (Abb. 23). Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon selbst zeigt nur schwache Fluoreszenz.

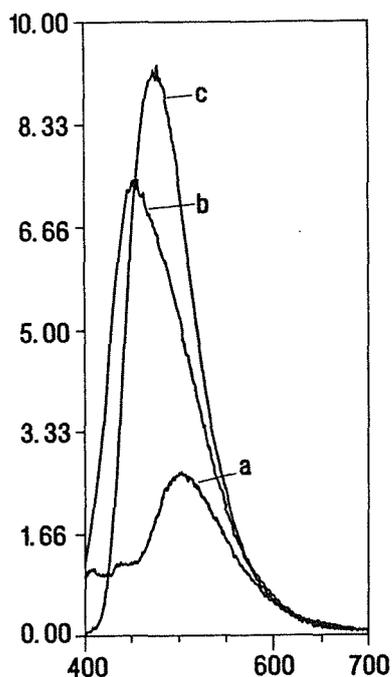
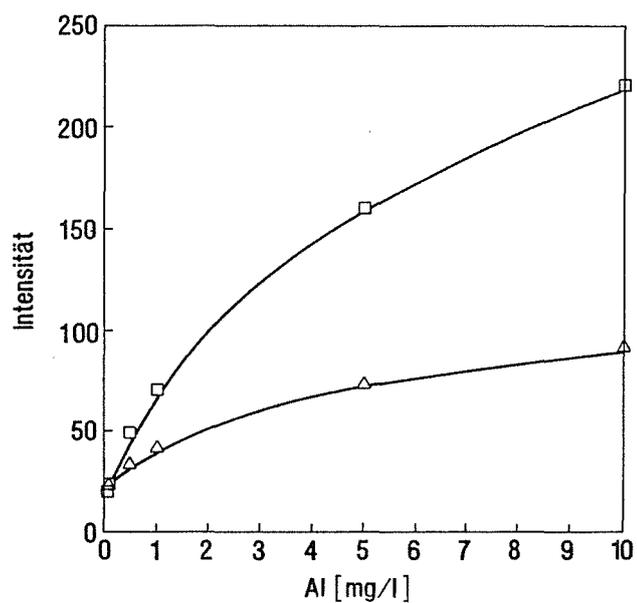


Abb. 23 Fluoreszenzspektren der Aluminium - und Zink - Komplexe

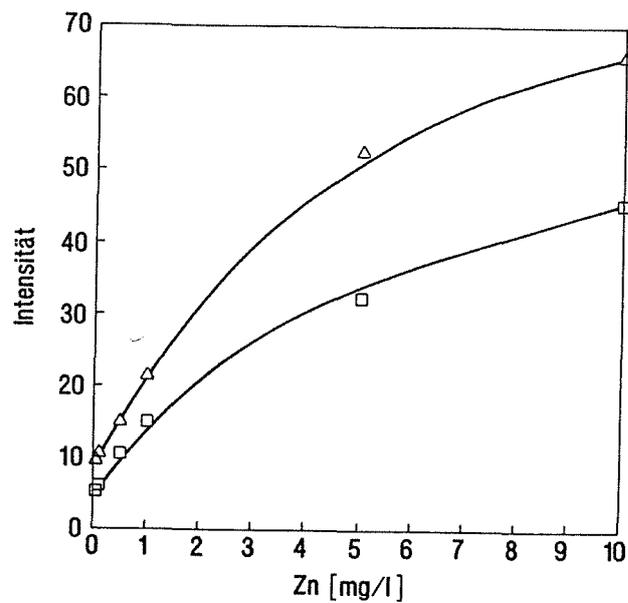
a: Blindspektrum

b: 0.5 mg/l Aluminium

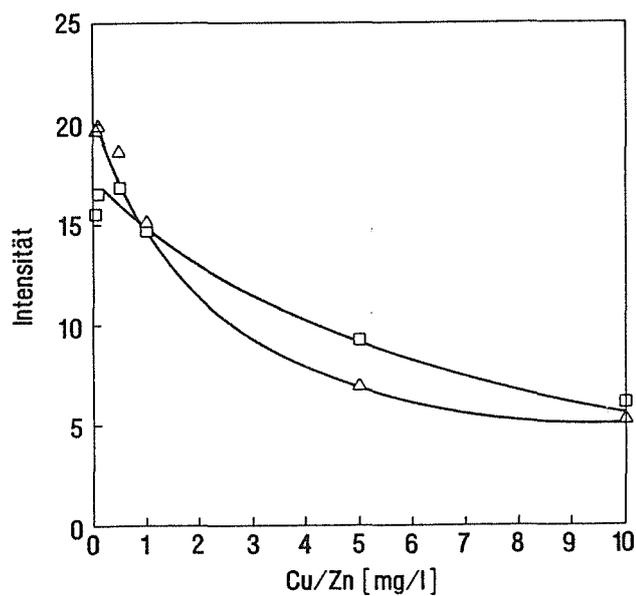
c: 1 mg/l Zink



a) Aluminium



b) Zink



c) Kupfer in Gegenwart von 1 mg/l Aluminium

Abb. 24 Eichkurven für Aluminium, Zink und Kupfer

□ Anregung: 380 nm, Emission: 450 nm

△ Anregung: 380 nm, Emission: 470 nm

Abb. 24a-c zeigt die Eichkurven für Aluminium und Zink sowie die Interferenz von Kupfer. Die größte Empfindlichkeit zeigt der Zink - Komplex. Für Kupfer wurde die Interferenz auf das Signal des Zink - Komplexes gemessen, indem den Kupfer enthaltenden Lösungen je 1 mg/l Aluminium zugesetzt wurde.

In Tab. 8 sind zusammenfassend die Empfindlichkeiten (Steigungen der Eichkurven) jedes Komplexbildners für Aluminium, Zink, Kupfer und Chrom, bezogen auf die molare Konzentration der Metallionen, gegenübergestellt.

Tab. 8: Empfindlichkeiten der Komplexbildner für Aluminium, Zink, Kupfer und Chrom

Komplexbildner/ Meßbedingungen	Aluminium	Zink	Kupfer	Chrom
<u>Calcein</u>				
472/500; 1 min.	2787.75	7910.13	-15608.30	0.0
472/500; 5 min.	5998.86	7910.13	-15608.30	0.0
488/508; 1 min.	1053.27	22218.34	-41611.55	0.0
488/508; 5 min.	651.24	22218.34	-41611.55	0.0
498/516; 1 min.	-3352.92	12326.59	-57931.05	0.0
498/516; 5 min.	-5124.06	12326.59	-57931.05	0.0
<u>Phenylfluoron</u>				
500/535	-149.29	0.0	-391.80	2922.40
<u>Morin</u>				
440/506	2020.95	137.43	-635.00	0.0
<u>Salicylaldehyd- thiocarbohydrazon</u>				
380/450	1394.28	6337.26	-1409.70	0.0
380/470	521.10	7272.48	-3378.20	0.0
<u>Thiophenaldehyd- Thiocarbohydrazon</u>				
400/465	0.0	30136.32	-15284.45	0.0
<u>8-Hydroxy-5-Sulfon- säure-Chinolin</u>				
365/526	1217.70	796.57	-626.11	-432.64
<u>4-Amino-2,2'-Dihydroxy- 5'-Sulfonsäure-Azobenzol</u>				
515/565	4548.42	-113.80	-8922.39	0.0

Tab. 8 veranschaulicht das unterschiedliche Verhalten der gewählten Komplexbildner bezüglich Aluminium, Zink, Kupfer und Chrom. Ein Sensorarray, das aus den

entsprechenden Sensoren zusammengestellt ist, sollte aufgrund der unterschiedlichen Empfindlichkeiten bei einem Komplexbildner und Nachweisbarkeit mit mehreren Komplexbildnern, mit multivariater Kalibration auszuwerten sein.

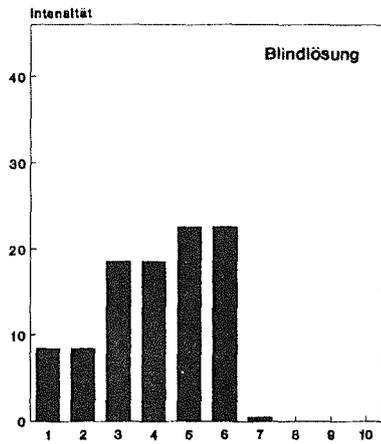
## 4.2 Simulation von Sensorarrays in Lösung

Zur Beantwortung der in Kapitel 4.1 formulierten Fragen wurden verschiedene Arrays simuliert, wobei die Komplexbildner in Lösung die Funktion der Sensoren übernahmen. Es wurde zunächst ein Sensorarray mit vier Komplexbildnern für Aluminium, Zink und Kupfer ohne Matrixeffekte (pH Schwankungen) oder chemische Interferenzen (Chrom) simuliert (Kap. 4.2.1). Danach wurde dieses Array durch drei Komplexbildner ergänzt, um die Anwesenheit eines störenden, nicht direkt meßbaren Metallions, wie beispielsweise Chrom, (Kap. 4.2.2) sowie pH Schwankungen als Matrixeffekt (Kap. 4.2.3) zuzulassen.

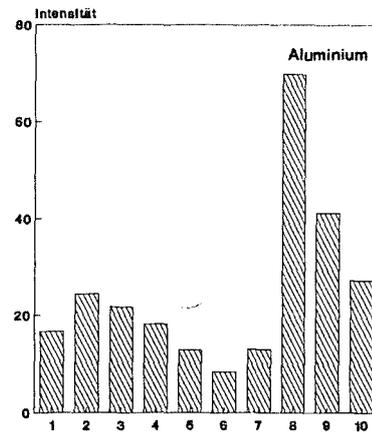
### 4.2.1 Array für Aluminium, Zink und Kupfer

Das Array besteht aus Morin, Calcein, Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon und 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol. Calcein dient als "Hauptkomplexbildner" für Kupfer. Dieser Nachweis wird jedoch durch Zink und Aluminium gestört. Es werden Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon für Zink und 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol für Aluminium zugefügt. Aluminium interferiert mit der Zink - Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Komplexbildung. 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol wird durch Kupfer gestört, so daß sich für jeden Komplexbildner unterschiedliche Querempfindlichkeiten ergeben. Um die Notwendigkeit einer Überbestimmung, d.h. mehr Komplexbildner als Komponenten abzuklären, wird das Array noch durch Morin als einen zweiten Komplexbildner für Aluminium ergänzt. Morin wird ebenso wie 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-

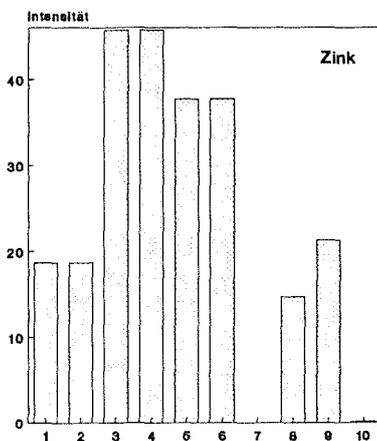
5'-Sulfonsäure-Azobenzol durch Kupfer beeinflusst, allerdings in geringerem Ausmaß.



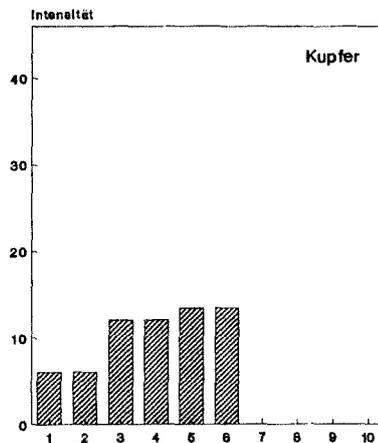
a) Blindwert



b) Aluminium



c) Zink



d) Kupfer

Calcein ( $\cdot 10$ )

1: 472/500 (1 min.)

3: 488/508 (1 min.)

5: 498/516 (1 min.)

7: Morin

Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon

8: 380/450

2: 472/500 (5 min.)

4: 488/508 (5 min.)

6: 498/516 (5 min.)

9: 380/470

10: 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

Abb. 25 Pattern des Arrays zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer

Bei dieser Kombination von Komplexbildnern ist Aluminium überbestimmt, Zink und Kupfer sind je einfach bestimmt.

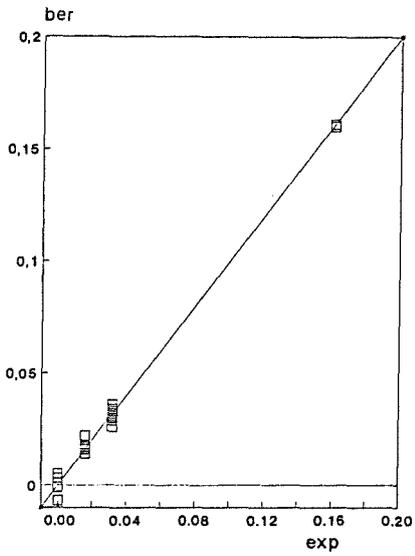
Die Meßbedingungen wurden entsprechend den Ausführungen in Kapitel 4.1 gewählt. Für drei Komponenten liefern die vier Komplexbildner zehn Meßwerte. Abb. 25 veranschaulicht die Unterschiede der Arraysignale für die einzelnen Komponenten. Die Pattern für Aluminium, Zink, und Kupfer stellen die Meßwerte der Komplexbildner für jeweils eine Lösung mit nur einer Komponente dar. Die Pattern müssen für jede Komponente charakteristisch verschieden sein, damit die multivariate Kalibration realisierbar ist (Kap. 2.3).

Die Pattern für Aluminium und Zink in Abb.15 zeigen die tatsächliche Auswirkung auf die Komplexbildner. Kupfer bildet ausschließlich nichtfluoreszierende Komplexe, so daß der Nachweis von Kupfer durch Komplexbildung nur bei Komplexbildnern mit Eigenfluoreszenz (hier: Calcein) im Pattern sichtbar wird. Die Einflußnahme von Kupfer auf die anderen Komplexbildner (4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol, Morin) ist nicht darstellbar. Das Pattern von Kupfer (Abb. 25d) enthält somit nur direkt meßbare Interferenzen.

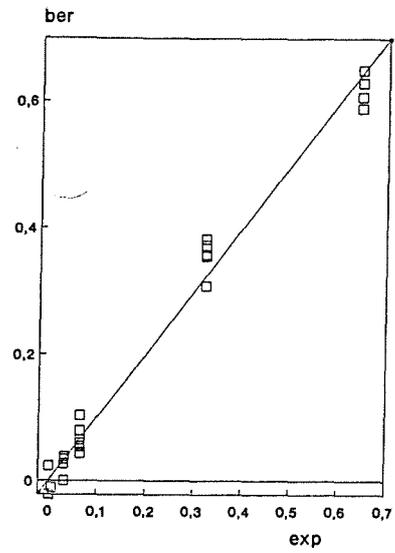
Mit 24 Kalibrationsproben wurde ein erstes Modell (Kap. 2.5.1) berechnet. Die Meßwerte der Kalibrationsproben sind in Tabelle A2 in Anhang 6.1 aufgeführt.

Durch "cross validation" wurde eine optimale Zahl von vier Faktoren bestimmt. Mit diesem Modell wurden nun zunächst für vier Faktoren die Zusammensetzung der Proben nach Kapitel 2.5.4 berechnet. Die Ergebnisse sind in Tab. A3 im Anhang 6.1 aufgeführt. Abb. 26 zeigt die graphische Darstellung der Ergebnisse für Aluminium (Abb. 26a), Zink (Abb. 26b) und Kupfer (Abb. 26c). Auf der Abszisse sind die experimentell vorgegebenen Konzentrationen, auf der Ordinate die berechneten Konzentrationen aufgetragen. Jeder Punkt in diesen Diagrammen repräsentiert eine Probe mit verschiedener Zusammensetzung. Bei vollständiger Übereinstimmung zwischen vorgegebener und berechneter Konzentration liegen die Punkte auf einer Geraden der Steigung Eins.

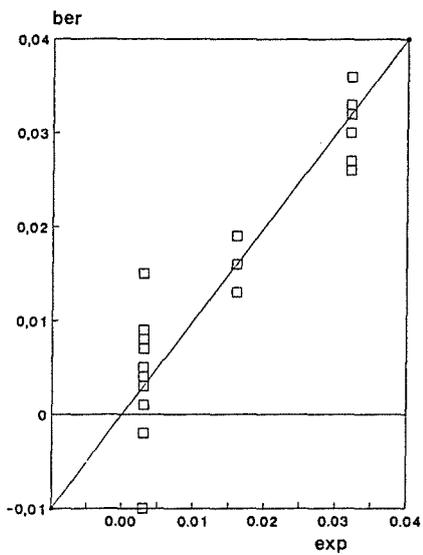
Für Aluminium stimmen die berechneten Konzentrationen gut mit den experimentell vorgegebenen überein (Abb. 26a). Zink wird mit einem größeren Fehler als Aluminium bestimmt (Abb. 26b), erklärbar durch die Überbestimmung von Aluminium mit dem gewählten Array. Zink und Kupfer werden mit diesem Array jeweils einfach bestimmt. Die Qualität der Konzentrationsberechnung sollte deshalb für beide gleich sein. Nach Abb. 26c ist jedoch die Berechnung der Kupfer-Konzentrationen in den Mischungen mit größerem Fehler behaftet als für Zink.



a) Aluminium



b) Zink



c) Kupfer

Abb. 26 Ergebnisse der ersten Kalibration

ber: berechnete Konzentration in mg/l

exp: experimentell vorgegebene Konzentration in mg/l

Der Kupfer - Nachweis (Calcein) wird durch Aluminium und Zink gestört, während Zink (Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon) nur durch ein weiteres Metallion, nämlich Aluminium, gestört wird. Daraus erklären sich die resultierenden Fehler bei der Bestimmung der Kupfer - und Zink - Konzentrationen.

Die optimale Zahl von Faktoren soll gleich der Zahl der Komponenten, Interferenzen und Matrixeffekte sein (hier: 3 Komponenten), sofern keine Nichtlinearitäten im Kalibrationsdatensatz vorhanden sind. Nichtlinearitäten können durch falsche Proben im Kalibrationsdatensatz oder durch Messen von Proben mit Konzentrationen außerhalb der dynamischen Bereiche der Komplexbildner (extreme Proben) verursacht werden.

Die innere Relation des Modells (Gl. 8 in 2.5.1) setzt die lineare Beziehung zwischen den Meßwerten und der Zusammensetzung der Proben voraus. Trägt man die Faktoren  $t_a$  der Meßwertmatrix gegen die Faktoren  $u_a$  der Konzentrationsmatrix auf (t-u-Diagramm), sollte sich für jeden relevanten Faktor eine Gerade ergeben, wobei der Korrelationskoeffizient  $r$  ein Maß für die Linearität der Daten darstellt. Die t-u-Diagramme für dieses Modell sind im Anhang 6.2 (Abb. A1 ) abgebildet. Die Korrelationskoeffizienten für die vier optimalen Faktoren sind in Tabelle 9 aufgeführt.

Tab. 9: Korrelationskoeffizienten der linearen Relation zwischen den  $t$ - und  $u$ - Faktoren

Faktor	r
1	0.88
2	0.84
3	0.60
4	0.65

Für den 3. und 4. Faktor ist die Linearitätsbedingung nicht erfüllt. Eine Ausreißeranalyse sollte nun Aufschluß über die Qualität des Kalibrationsdatensatzes geben. In Tabelle 10 sind die zur Ausreißeranalyse nach Kapitel 2.6 notwendigen statistischen Größen aufgeführt.

Der F-Test für die Meßdaten ermittelt die Proben 10, 15, 24 als Ausreißer. Für die Konzentrationsdaten wird eine Ausreißerwarnung für die Proben 14, 15 gegeben. Die "leverages" der Proben weichen bis auf Probe Nr. 14 nur wenig vom theoretischen Wert (0.400) ab.

Für die Proben 14 und 15 waren jeweils zwei der drei Kriterien der Ausreißeranalyse erfüllt. Sie wurden aus dem Kalibrationsdatensatz entfernt und die Berechnung des Modells erneut durchgeführt.

Tab. 10: F-Test für die Meß- und Konzentrationsdaten und "leverage" der Proben

Probe	$s_{x,i}^2 \cdot 10^{-2}$	$F_{6,134}$	$h_i$	$s_{y,i}^2 \cdot 10^{-3}$	$F_{3,61}$
1	0.07	-	0.125	3.98	-
2	0.01	-	0.122	0.07	-
3	1.74	1.799	0.213	3.16	-
4	0.98	1.013	0.258	4.69	-
5	1.44	1.489	0.097	4.53	-
6	1.34	1.385	0.073	2.37	-
7	1.74	1.799	0.084	3.13	-
8	0.74	-	0.126	17.20	-
9	0.55	-	0.206	2.19	-
10	2.43	2.513	0.127	7.30	-
11	0.63	-	0.150	6.31	-
12	0.13	-	0.455	7.08	-
13	0.12	-	0.417	4.53	-
14	0.71	-	0.736	181.00	9.42
15	2.71	2.802	0.288	149.00	7.75
16	0.42	-	0.103	1.54	-
17	0.36	-	0.257	17.20	-
18	0.61	-	0.188	0.18	-
19	0.35	-	0.140	1.64	-
20	0.40	-	0.093	1.75	-
21	0.50	-	0.227	21.50	1.12
22	1.16	1.199	0.146	4.06	-
23	1.73	1.789	0.112	0.52	-
24	2.34	2.419	0.258	15.84	-

$I=24$ ;  $A=4$ ;  $K=10$ ;

$df_{x,i}=6$ ;

$df_{x,g}=134$ ;

$s_{x,g}^2=0.97 \cdot 10^{-2}$ ;

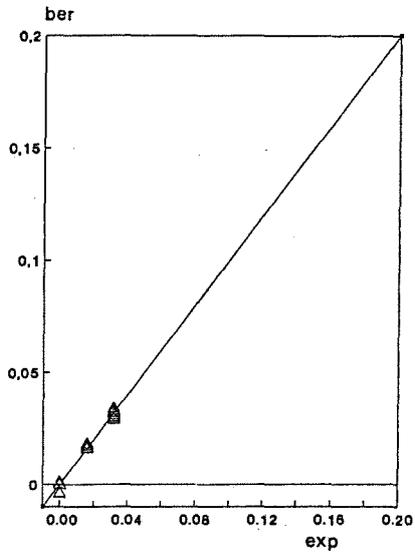
$F_x=2.17$ ;

$df_{y,i}=3$ ;

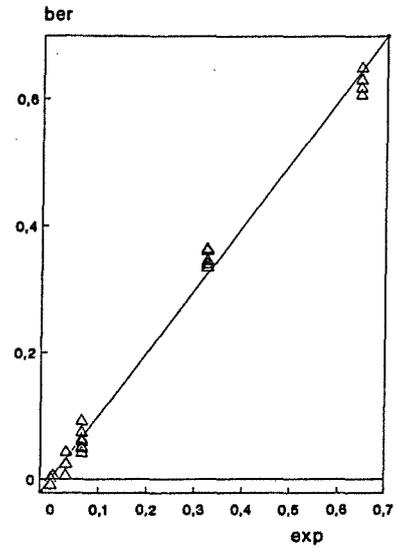
$df_{y,g}=61$ ;

$s_{y,g}^2=19.22 \cdot 10^{-3}$ ;

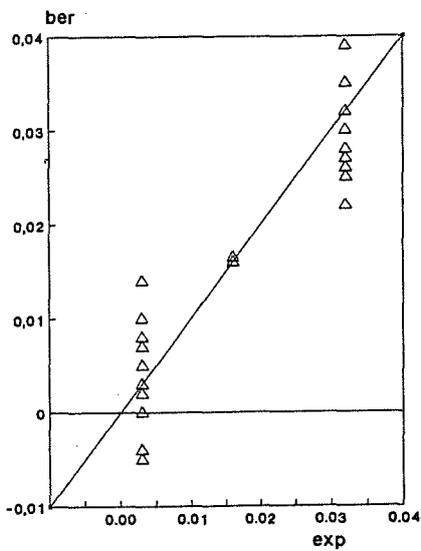
$F_y=2.76$ ;



a) Aluminium



b) Zink



c) Kupfer

Abb. 27 Ergebnisse der Kalibration ohne Ausreißer

ber: berechnete Konzentration in mg/l

exp: experimentell vorgegebene Konzentration in mg/l

Die Ergebnisse der Konzentrationsberechnung mit dem neuen Modell (ohne Ausreißer) sind in Abb. 27 graphisch dargestellt. Für Zink (Abb. 27b) verbesserte sich die Bestimmung gegenüber dem ersten Modell. Die Konzentrationsberechnung für Kupfer (Abb. 27c) konnte mit diesem Array nicht verbessert werden. Das Array muß also durch Komplexbildner für Kupfer ergänzt werden.

Die optimale Zahl von Faktoren ist nach Entfernen der Ausreißer gleich der Zahl der Komponenten, wie es auch theoretisch zu erwarten ist. Anhand der t-u-Diagramme (Abb. A2, Anhang 6.2) bzw. der Korrelationskoeffizienten  $r$  (Tab. 11) ist ersichtlich, daß die Linearität zwischen den Daten erheblich verbessert wurde.

Tab. 11: Korrelationskoeffizienten der linearen Relation zwischen den  $t$ - und  $u$ -Faktoren

Faktor	$r$
1	0.89
2	0.80
3	0.94

Mit dem Array, bestehend aus Calcein, Morin, Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon und 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol, konnten Aluminium - Zink - Kupfer - Mischungen analysiert werden. Bedingt durch die Überbestimmung von Aluminium mit zwei Komplexbildnern konnte eine gute Übereinstimmung von experimentellen und berechneten Konzentrationen erzielt werden. Die Bestimmung von Zink konnte durch Entfernen der Ausreißer verbessert werden. Zur genaueren Kupfer - Bestimmung muß das Array durch weitere Komplexbildner erweitert werden. Es wurde die richtige Zahl von Faktoren gefunden, d.h. das Kalibrationsmodell war vollständig.

#### 4.2.2 Erweitertes simuliertes Array für Aluminium, Zink und Kupfer mit chemischer Interferenz

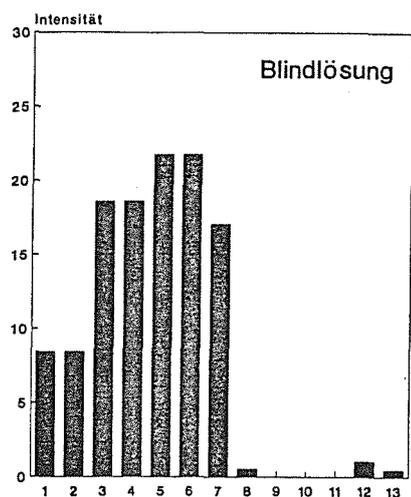
Das in 4.2.1 beschriebene Array wurde durch einen Komplexbildner für Kupfer (Phenylfluoron) und zwei Komplexbildner für Zink (Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon, 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin) zur Überbestimmung für Zink erweitert. Insgesamt ergaben sich daraus dreizehn Meßwerte von insgesamt sieben Komplexbildnern. Zusätzlich wurde eine chemische Interferenz durch Anwesenheit von Chrom zugelassen.

Die Eigenfluoreszenz von Phenylfluoron wird durch Kupfer vermindert. Zink interferiert nicht, Aluminium innerhalb des gemessenen Konzentrationsbereiches (0 - 1 mg/l) nur in geringem Maß. Phenylfluoron wird deshalb als zusätzlicher Kupfer - Komplexbildner eingesetzt. Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon bildet mit Zink einen fluoreszierenden Komplex, dessen Bildung nur durch Kupfer gestört wird. 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin spricht auf Aluminium und Zink an. Kupfer interferiert mit den Komplexen von 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin durch konkurrierende Komplexbildung.

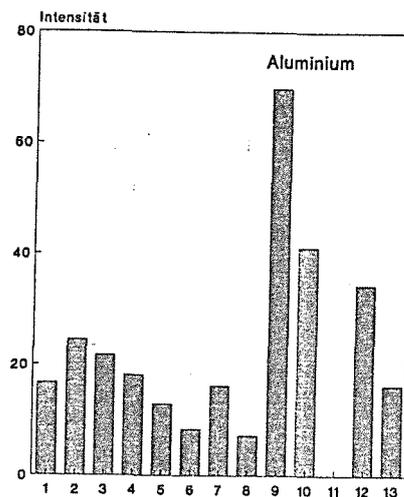
Chrom beeinflusst nur die Meßwerte von Phenylfluoron und 8-Hydroxy-Chinolin. Diese chemische Interferenz soll durch die anderen Komplexbildner modelliert werden. Insgesamt ist zu erwarten, daß die 13 Meßwerte mehr Information über die Zusammensetzung der Mischungen enthalten als notwendig ist.

Abb. 28 zeigt die ermittelten Pattern dieses Arrays.

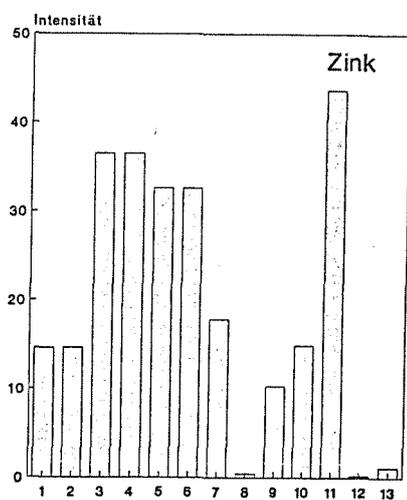
Es wurde eine erste Kalibration mit 32 Proben vorgenommen. Die Meßwerte sind in Tab. A4 im Anhang 6.1 aufgeführt. Nach der Ausreißeranalyse (Tab. 12) wurden vier Proben (Nr. 43, 44, 54, 56) entfernt.



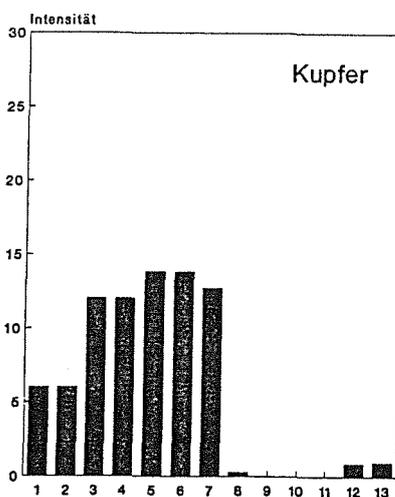
a) Blindwert



b) Aluminium



c) Zink



d) Kupfer

Calcein (-10)

1: 472/500 nm (1 min.) 2: 472/500 nm (5 min.)

3: 488/508 nm (1 min.) 4: 488/508 nm (5 min.)

5: 498/516 nm (1 min.) 6: 498/516 nm (5 min.)

7: Phenylfluoron 8: MorinSalicylaldehyd-Thiocarbohydrazon

9: 380/450 10: 380/470

11: Thiohenaldehyd-Thiocarbohydrazon 12: 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin13: 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

Abb. 28 Pattern des erweiterten Arrays zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer in Gegenwart von Chrom

Tab. 12: F-Test für die Meß- und Konzentrationsdaten und "leverage" der Proben

Probe	$s_{x,i}^2 \cdot 10^{-2}$	$F_{8,243}$	$h_i$	$s_{y,i}^2 \cdot 10^{-3}$	$F_{3,83}$
25	2.24	1.31	0.080	12.60	-
26	0.74	-	0.098	2.29	-
27	0.71	-	0.073	1.52	-
28	0.20	-	0.070	0.84	-
29	1.51	-	0.079	3.08	-
30	0.46	-	0.079	0.47	-
31	0.60	-	0.099	0.80	-
32	0.89	-	0.099	1.97	-
33	0.39	-	0.080	7.11	-
34	0.81	-	0.110	4.43	-
35	0.38	-	0.073	1.01	-
36	1.93	1.13	0.104	0.28	-
37	0.57	-	0.065	1.03	-
38	0.02	-	0.216	2.31	-
39	0.74	-	0.089	1.88	-
40	1.05	-	0.366	13.17	-
41	1.09	-	0.074	14.61	-
42	2.61	1.52	0.060	4.70	-
43	1.11	-	0.204	107.31	7.26
44	3.75	2.19	0.564	39.89	2.70
45	1.58	-	0.246	13.74	-
46	1.47	-	0.390	12.60	-
47	1.24	-	0.195	12.96	-
48	3.80	2.22	0.279	4.43	-
49	1.10	-	0.204	17.74	1.20
50	0.90	-	0.229	16.85	1.14
51	2.03	1.19	0.518	38.52	2.61
52	2.67	1.56	0.164	5.65	-
53	2.66	1.56	0.187	38.10	2.58
54	8.82	5.16	0.300	43.82	2.96
55	0.81	-	0.190	3.55	-
56	5.94	3.47	0.417	42.94	2.91

I = 32; A = 5; K = 13  
 $df_{y,g} = 83$ ;  $df_{y,i} = 3$ ;  
 $s_{y,g}^2 = 0.01478$ ;  $F_y = 2.72$

$df_{x,g} = 243$ ;  $df_{x,i} = 8$   
 $s_{x,g}^2 = 0.0171$ ;  $F_x = 1.98$

Abb. 29 stellt die Ergebnisse der Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer mit dem erweiterten Array nach Entfernen der Ausreißer dar. Sie sind auch in Tab. A5 im Anhang 1 aufgeführt.

Aluminium wurde ab 0.05 mg/l mit einem Fehler von maximal 5% bestimmt. Die Punkte liegen auf der Geraden mit der Steigung eins. Chrom beeinträchtigt die Aluminium - Komplexbildner nur in geringem Maße.

Die Zink - Bestimmung konnte durch Hinzunahme der zusätzlichen Komplexbildner merklich verbessert werden. Ab 0.1 mg/l betrug der Fehler maximal 10 %.

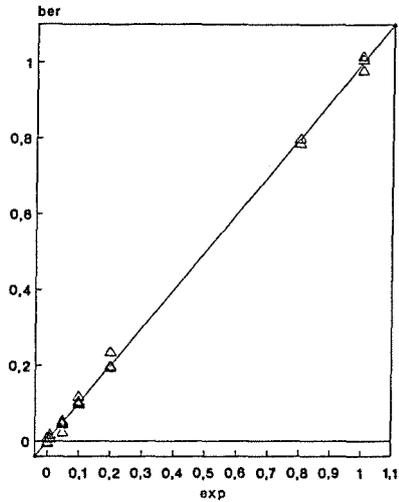
Für Kupfer ergab sich keine wesentliche Verbesserung, da Chrom die Kupfer - Phenylfluoron - Komplexbildung interferierte. Die Bestimmung von Kupfer gelingt mit diesem Array ab 0.8 mg/l mit einem Fehler von 8%.

Die Validierung mit "cross validation" ergab sechs relevante Faktoren für die drei Komponenten und eine Interferenz. Die t-u-Diagramme (Anhang 6.2, Abb. A3) bzw. die Regressionskoeffizienten (Tab. 13) zeigen die noch vorhandenen Nichtlinearitäten in den Daten.

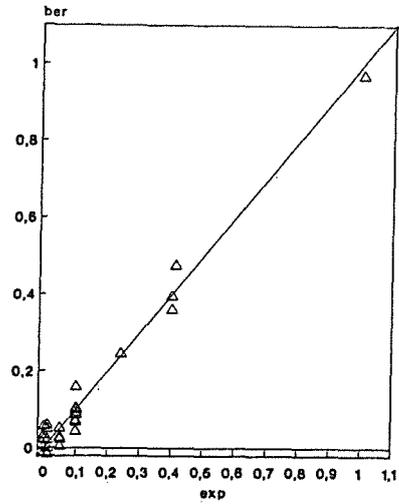
Tab. 13: Korrelationskoeffizienten der linearen Relation zwischen den  $\underline{t}$ - und  $\underline{u}$ - Faktoren

Faktor	r
1	0.97
2	0.85
3	0.82
4	0.65
5	0.76
6	0.71

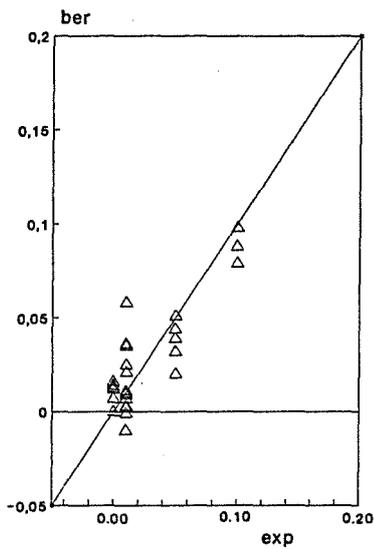
Diese Nichtlinearitäten ergeben sich durch Messung in Konzentrationsbereichen über die dynamischen Bereiche der Komplexbildner hinaus (extreme Proben). Sie sind deshalb nicht weiter zu verbessern, da die extremen Proben im Datensatz verbleiben sollen.



a) Aluminium



b) Zink



c) Kupfer

Abb. 29: Ergebnisse des erweiterten Arrays zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer in Gegenwart der chemischen Interferenz Chrom  
ber: berechnete Konzentration in mg/l  
exp: experimentell vorgegebene Konzentration in mg/l

#### 4.2.3 Simuliertes Array für Aluminium, Zink und Kupfer mit chemischer Interferenz und Matrixeffekt

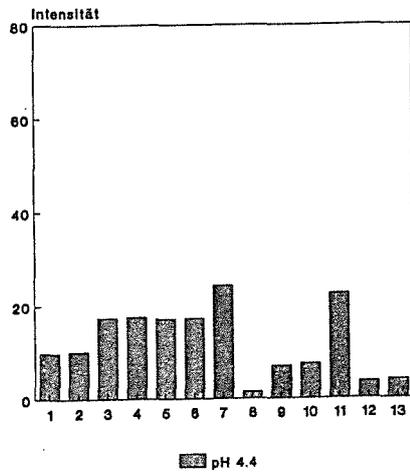
Abb. 30 zeigt den Einfluß des pH Wertes auf das Array am Beispiel einer 0.1 mg/l Zink enthaltenden Lösung. Die Pattern bei pH 4.4 und pH 4.7 unterscheiden sich nur wenig. Dagegen zeigt das Pattern bei pH 5.4 (Abb. 30c) deutlich höhere Intensitäten für die gleiche Zink - Konzentration. Die Eigenfluoreszenz von Calcein (Nr. 1-6) und Phenylfluoron (Nr. 7) nimmt mit zunehmendem pH Wert zu. Die erhöhten Intensitäten beruhen nicht allein auf größeren Komplexbildungskonstanten. Abb. 30c zeigt für die Calcein - Intensitäten bei 498/516 nm (Nr. 5 und 6) ein Maximum. Dies stimmt nicht mit dem Fluoreszenzspektrum des Zink - Komplexes überein, dessen maximale Intensitäten bei 488/508 nm liegen, d.h. die pH bedingte Erhöhung der Fluoreszenzintensität des freien Calceins überdeckt die Fluoreszenz des Zink - Komplexes. Die erheblich erhöhte Intensität von Phenylfluoron täuscht die Anwesenheit von Chrom vor. Sie kann gemäß den Ausführungen in Kapitel 4.1 nicht mit der Zink - Konzentration in Einklang gebracht werden.

Die Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - und Thiophenlaldehyd-Thiocarbohydrazon - Intensitäten täuschen eine zu hohe Zink - Konzentration vor.

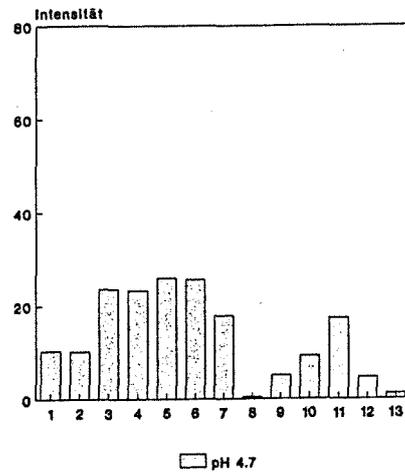
Die Zunahme der Fluoreszenzintensität von 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol beruht vermutlich auf der Deprotonierung der Hydroxygruppen, so daß scheinbar die Anwesenheit von Aluminium detektiert wird.

Aus diesen Ausführungen folgt, daß Probelösungen mit verschiedenem pH Wert nicht ohne zusätzliche Information mit dem in Kapitel 4.2.2 beschriebenen Array analysiert werden können. Das Array wurde daher durch einen pH Indikator, Fluorescein, ergänzt.

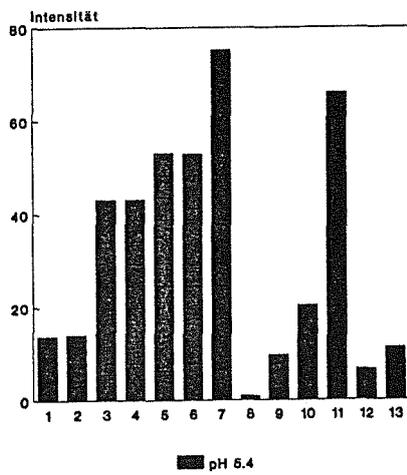
Es wurde eine Kalibration mit 42 Proben durchgeführt. Die Meßwerte sind ebenfalls in Tabelle A4 im Anhang 6.1 aufgeführt.



a) pH 4.4



b) pH 4.7



c) pH 5.4

Abb. 30 Einfluß des pH Wertes auf ein Zink-Pattern ( 0.1 mg/l Zink)

Eine Ausreißeranalyse ergibt die Proben 44, 48, 53, 55, 58, 59, 60, 61, 62 und 66 als Ausreißer (Tab. 14). Dies sind u.a. alle Proben mit pH 5.4.

Tab. 14:F-Test für die Meß- und Konzentrationsdaten und "leverage" der Proben

Probe	$s_{x,i}^2 \cdot 10^{-2}$	$F_{7,280}$	$h_i$	$s_{y,i}^2 \cdot 10^{-2}$	$F_{4,150}$
25	1.47	-	0.056	1.52	2.00
26	0.33	-	0.068	0.61	-
27	0.45	-	0.081	0.40	-
28	0.27	-	0.065	0.06	-
29	0.86	-	0.055	0.54	-
30	0.50	-	0.065	0.50	-
31	0.84	-	0.072	1.51	1.98
32	0.35	-	0.063	0.03	-
33	0.20	-	0.081	1.21	1.59
34	1.29	-	0.080	1.02	1.34
35	0.26	-	0.072	0.03	-
36	0.33	-	0.095	0.41	-
37	0.29	-	0.063	0.08	-
38	1.01	-	0.154	2.71	3.56
39	0.63	-	0.098	0.34	-
40	1.61	1.08	0.098	3.53	4.64
41	0.99	-	0.044	2.08	2.73
42	0.80	-	0.051	0.34	-
43	0.27	-	0.179	2.88	3.78
44	3.23	2.17	0.299	9.89	13.00
45	0.66	-	0.152	8.60	11.30
46	3.98	2.67	0.079	1.37	1.80
47	0.61	-	0.158	6.94	9.12
48	3.19	2.14	0.137	9.02	11.85
49	0.30	-	0.134	2.33	3.06
50	0.29	-	0.193	1.60	2.10
51	1.99	1.34	0.323	17.40	22.88
52	0.56	-	0.168	1.23	1.62
53	7.17	4.82	0.175	5.16	6.78
54	1.61	1.08	0.307	3.10	4.07
55	0.05	-	0.160	2.24	2.94
56	3.00	2.02	0.352	7.90	10.38
58	5.25	3.53	0.338	9.75	12.81

## Fortsetzung Tab. 14

59	3.58	2.41	0.605	2.01	2.64
60	1.66	1.12	0.499	21.40	28.12
61	3.10	2.08	0.646	34.89	45.85
62	2.90	1.95	0.508	22.88	30.07
63	0.91	-	0.225	2.65	3.48
64	0.53	-	0.144	10.38	13.64
65	1.05	-	0.365	1.70	2.23
66	3.26	2.19	0.377	5.37	7.06
67	0.86	-	0.119	5.88	7.73

$I=42; A=7; K=13;$

$df_{y,g}=150;$

$df_{y,i}=4;$

$s_{y,g}^2=0.0761;$

$F_y=2.43$

$df_{x,g}=280;$

$df_{x,i}=7$

$s_{x,g}^2=0.014881$

$F_x=2.05$

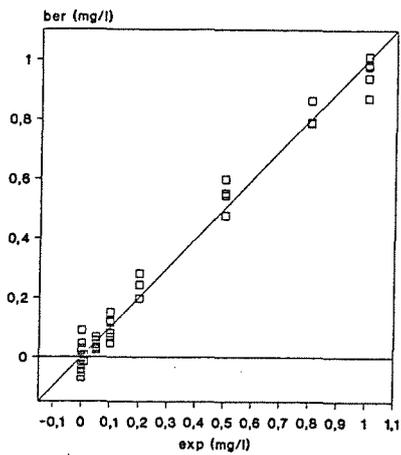
Eine erneute Kalibration ohne die Ausreißer führt zu Ergebnissen, die mit denen von Kapitel 4.2.2 vergleichbar sind. pH Schwankungen über eine pH Einheit sind mit diesem Array nicht modellierbar, wie Abb. 31 zeigt, in der die Ergebnisse der quantitativen Analyse mit dem 1. Kalibrationsmodell, d.h. bei pH Schwankungen über eine pH Einheit dargestellt sind.

Aluminium wurde mit größerem Fehler (18%) bestimmt als bei konstantem pH Wert. Auch bei Zink ist der Fehler (41%) der Konzentrationsberechnung größer geworden (Abb. 31b). Die quantitative Bestimmung von Kupfer gelingt nicht mehr, da die Punkte in Abb. 21c nicht um die Gerade mit der Steigung eins liegen. Die Regressionsgerade in Abb. 31c weist eine kleinere Steigung auf, was auf einen systematischen Fehler hinweist. Es ergeben sich lediglich Hinweise auf Kupfer - Gehalte von mehr als 0.1 mg/l.

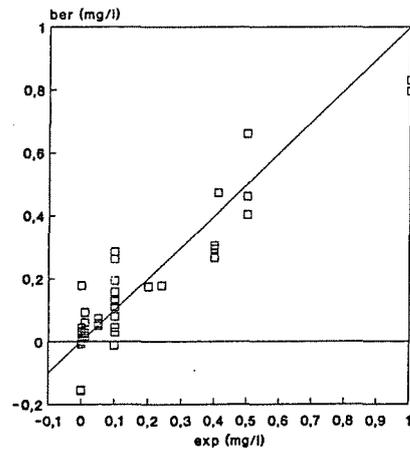
Die Bestimmung des pH Wertes war innerhalb eines Fehlers von 2% möglich (Abb. 31 d).

Mit den Arraysimulationen konnte die Übertragbarkeit der multivariaten Kalibration auf ein Array unter Beweis gestellt werden, sofern die pH Schwankungen weniger als eine Einheit betragen. Die gleichzeitige Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer in Gegenwart von Chrom war mit 13 Meßwerten von sieben Kom-

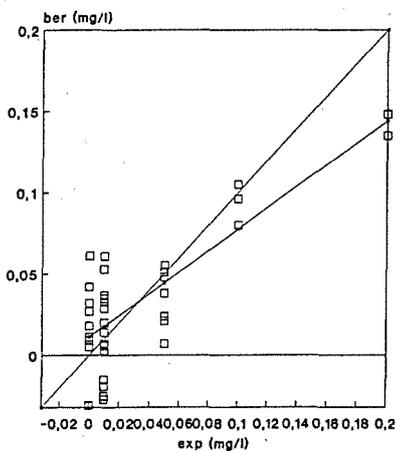
plexbildnern möglich. Eine Überbestimmung, d.h. mehr Meßwerte als zu bestimmende Ionen erwies sich als vorteilhaft.



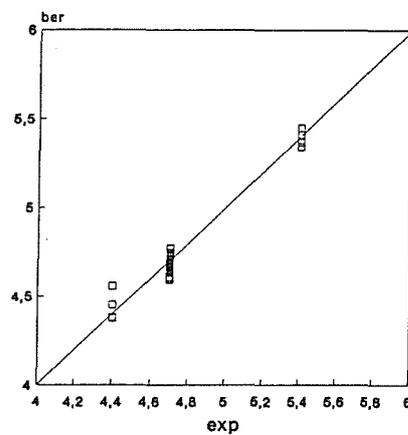
a) Aluminium



b) Zink



c) Kupfer



d) pH

Abb. 31 Ergebnisse der Bestimmung von Aluminium, Zink, Kupfer und des pH Wertes mit sieben Komplexbildnern und einem pH Indikator

### 4.3 Ausreißer in Proben mit unbekannter Zusammensetzung

Die Entwicklung eines Arrays wird für ein vorgegebenes Analysenproblem durchgeführt, da die Vorauswahl der Komplexbildner bzw. der chemischen Sensoren für die zu quantifizierenden Komponenten und die zu erwartenden Interferenzen getroffen werden muß. Für praktische Applikationen ist die Erkennung von Abweichungen in der Zusammensetzung der Probe durch unvorhergesehene interferierende Elemente notwendig, da eine nicht im Kalibrationsdatensatz berücksichtigte Interferenz die Berechnung von falschen Konzentrationen der zu quantifizierenden Elemente zur Folge haben kann.

Weiterhin resultieren falsche Informationen über die Zusammensetzung der Analysenprobe, wenn z.B. versehentlich mit falschen Meßparametern oder einem fehlerhaft messenden Sensor gemessen wird.

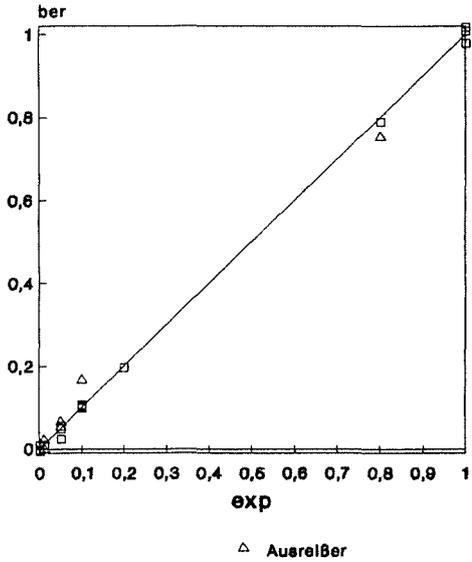
Diese Fehlerquellen müssen erkannt werden, um falsche Analysenergebnisse zu vermeiden. Falsche oder extreme Proben sollen durch die Ausreißeranalyse erkannt werden. Zur Ausreißeranalyse wurde ein F - Test der Meßdaten nach den Gleichungen (16-18, 24) durchgeführt sowie das "leverage" der Proben betrachtet.

Die Möglichkeit der Auffindung von falschen Proben wurde anhand eines Testsets, bestehend aus 15 richtigen Proben, 4 falschen Proben und einer Probe mit einem größeren Chrom - Gehalt als im Kalibrationsdatensatz enthalten war, untersucht (Tab. A6, Anhang 6.1). Die falschen Proben wurden mit kleineren Spaltbreiten für die Anregung und Emission der Calcein - Fluoreszenz gemessen.

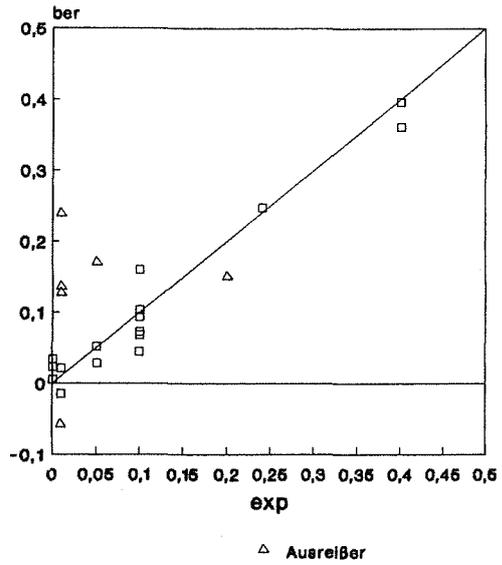
Mit Hilfe des F - Tests und des "leverage" der Proben wurden die vier falschen Proben eindeutig als Ausreißer identifiziert (Tab. 15). Die Konzentrationen von Aluminium, Zink und Kupfer wurden falsch berechnet. Die Probe mit dem zu hohen Chrom - Gehalt wurde als extreme Probe (hohes "leverage", keine signifikante Abweichung des Fehlers in den Meßdaten) erkannt. Die für diese Probe ermittelten Konzentrationen lagen innerhalb der Streuung der richtigen Proben.

Der F - Test und das "leverage" einer Probe können somit zur Identifikation von falschen Proben mit unbekannter Zusammensetzung herangezogen werden.

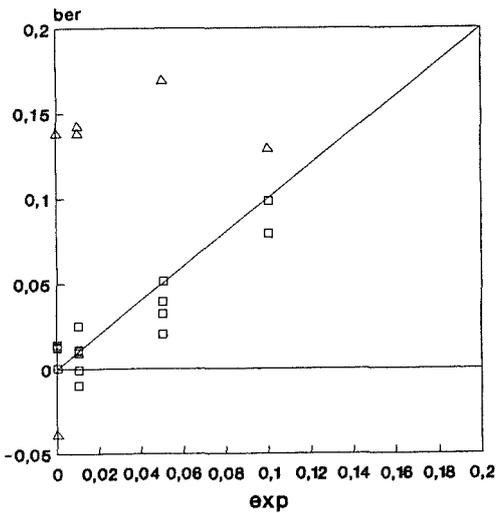
Abb. 32 zeigt die Ergebnisse der Konzentrationsberechnung für dieses Testset im Vergleich zu den experimentell vorgegebenen Konzentrationen. Die Konzentrationen der falschen Proben weichen besonders für Zink und Kupfer deutlich von den tatsächlichen Konzentrationen ab.



a) Aluminium



b) Zink



c) Kupfer

Calcein

1: 472/500 (1 min)

3: 488/508 (1 min)

5: 498/516 (1 min)

7: Phenylfluoron

Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon

9: 380/450

11: Thiophenlaldehyd-Thiocarbohydrazon

12: 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin

13: 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

2: 472/500 (5 min)

4: 488/508 (5 min)

6: 498/516 (5 min)

8: Morin

10: 380/470

Abb. 32 Ergebnisse für das Testset "falsch gemessene Proben"

Tab. 15: F-Test für die Meßdaten des Testsets und "leverage" der Testproben

Probe	$s_{x,i}^2 \cdot 10^{-3}$	$F_{7,183}$	$h_i$
F1	39.142	5.33	1.04
F2	11.544	1.57	1.19
F3	22.905	3.12	1.27
F4	14.374	1.96	0.88
F5	8.312	1.13	0.92
1	3.154	-	0.06
2	2.415	-	0.08
3	3.609	-	0.09
4	6.254	-	0.05
5	4.895	-	0.10
6	0.678	-	0.06
7	1.263	-	0.26
8	9.604	1.31	0.07
9	4.045	-	0.31
10	2.877	-	0.52
11	10.380	1.41	0.42
12	4.077	-	0.22
13	4.001	-	0.53
14	7.429	1.01	0.49

$$s_{g,x}^2 = 0.00734; F_x = 2.05;$$

Dies kann folgendermaßen erklärt werden:

Calcein spricht hauptsächlich auf Kupfer an. Entsprechend den zu niedrigen Calcein-Intensitäten (kleinere Spaltbreiten) werden die Kupfer-Konzentrationen zu hoch berechnet. Da im Kalibrationsmodell die Interferenz von Kupfer auf die anderen Meßwerte enthalten ist, wirkt sich die falsche Berechnung der Kupfer-Konzentration auf die Berechnung der anderen Komponenten, insbesondere Zink, aus. Kupfer beeinflusst hauptsächlich die Meßwerte von Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon, 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin und 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol. Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon und 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin fungieren als Zink-Komplexbildner. Bedingt durch die zu hoch berechneten Kupfer-Konzentrationen werden die Meßwerte von Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon und 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin falsch interpretiert, so daß zu

hohe Zink - Konzentrationen resultieren. Der Einfluß der falsch berechneten Kupfer - Konzentrationen auf die Konzentrationen von Aluminium ist dagegen gering, da Aluminium in diesem simuliertem Array überbestimmt ist.

Tab. 16 F-Test für die Meßwerte des Testsets

Meßwert	Kalibrationsset $s(e_k)^2 \cdot 10^{-3}$	Testset $s(e_k)^2 \cdot 10^{-3}$	$F_{22,27}$
Calcein			
472/500 (1 min)	7.765	10.341	1.33
472/500 (5 min)	4.607	4.483	0.97
488/508 (1 min)	2.199	2.045	0.93
488/508 (5 min)	6.494	13.830	2.13
498/516 (1 min)	1.150	1.555	1.35
498/516 (5 min)	1.508	2.370	1.57
Phenylfluoron	0.113	0.229	2.02
Morin	1.001	0.821	0.82
Salicylaldehyd-			
Thiocarbohydrazon			
380/450	2.449	2.658	1.09
380/470	14.462	18.102	1.25
Thiophenaldehyd-			
Thiocarbohydrazon	3.301	12.587	3.81
8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-			
Chinolin	2.875	22.791	7.93
2,2'-Dihydroxy-	1.957	4.071	2.08
4-Sulfonsäure-Azo-			
benzol			

F = 1.95

Mit dem simulierten Array wurden für alle Proben des Testsets Konzentrationen berechnet. Die falschen Proben konnten jedoch identifiziert werden, so daß Fehlanalysen vermieden werden konnten.

Zur Bestimmung der Fehlerursache "falsch gemessene Proben" wurden die Standardabweichungen der Meßwerte des Testsets mit denjenigen des Kalibrationssets verglichen (F - Test). Tab. 16 zeigt signifikante Abweichungen für einen Meßwert von Calcein, Phenylfluoron, Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon, 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin und 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol. Dies steht im Einklang mit den Überlegungen zur Interferenz von Kupfer auf die Meßwerte des Arrays. Es konnte jedoch keine Aussage über die Art der Ausreißer, d.h. falsche Meßparameter (kleinere Spaltbreiten bei der Messung der Calcein-Fluoreszenz), getroffen werden, da sich nur wenige Standardabweichungen der Meßwerte von Calcein signifikant von den zu erwartenden Standardabweichungen unterschieden.

Abgesehen von unbekanntem Interferenzen oder fehlerhaften Messungen von einigen Proben können die Ergebnisse eines Arrays durch einen beschädigten oder driftenden Sensor verfälscht werden. Für praktische Anwendungen ist es notwendig, diese Fehlerquelle ausfindig zu machen, um sie zweifelsfrei vom Fall "falsch gemessene Proben" unterscheiden zu können. Diese Anforderung an die chemometrische Auswertung eines Sensorarray wurde ebenfalls anhand einer Simulation in Lösung überprüft.

Es wurde für jeden Komplexbildner eine Drift simuliert, indem für ein Testset, bestehend aus 23 richtig gemessenen Proben, nacheinander die Meßwerte der Komplexbildner um 57% verringert wurden. Dies entspricht einem Drift bedingten verminderten Signal. Um eine künstliche Angleichung der Proben für den jeweiligen Meßwert zu vermeiden, wurde diesen verfälschten Meßwerten ein zusätzliches Rauschen (3%) überlagert.

Die Standardabweichung für jeden Meßwert wurde aus den Residuals des Meßwerts über alle Proben des Testset errechnet. Sie wurde mit der auf analoge Weise ermittelten Standardabweichung des jeweiligen Meßwerts des Kalibrationsset verglichen (F - Test). Eine Drift sollte die signifikante Abweichung der Standardabweichung des Komplexbildners mit simulierter Drift zur Folge haben. Tab. 17 zeigt die ermittelten F - Werte für die Komplexbildner mit simulierter Drift.

Die Simulation einer Drift der Komplexbildner Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon, Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon, 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol und 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin wurde eindeutig durch die signi-

fikante Abweichung der Standardabweichung im Vergleich zum Kalibrationsset erkannt.

Tab. 17 Ergebnisse des F - Tests für eine simulierte Drift ( $F_{22,27}$ )

Meßwert	Komplexbildner mit simulierter Drift						
	Calc.	PTF	Morin	SATCH	TITCH	HQS	Azo
Calcein							
472/500/1	1.58	-	4.70	5.13	1.62	1.17	0.94
472/500/5	6.52	2.02	1.53	10.66	7.92	1.05	1.06
488/508/1	6.03	1.94	2.00	1.56	8.48	1.80	2.12
488/508/5	7.38	1.53	3.51	4.93	4.71	1.16	4.57
498/516/1	3.21	2.03	4.72	5.83	1.87	7.44	8.35
498/516/5	1.23	3.28	1.92	6.99	1.58	3.29	5.97
PTF	4.65	2.84	1.03	16.17	9.55	8.48	2.51
Morin	1.60	-	6.56	31.64	1.13	4.71	0.72
SATCH							
380/450	2.96	1.22	1.37	77.62	1.10	13.16	25.78
380/470	2.62	1.26	3.68	71.07	-	1.91	2.10
TITCH	8.09	2.10	1.34	1.68	19.15	22.91	2.42
HQS	5.94	2.08	3.26	47.28	27.83	122.65	8.60
Azo	2.83	1.51	1.23	103.75	2.34	13.13	122.40

F = 1.95

PTF: Phenylfluoron

SATCH: Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon

TITCH: Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon

Azo: 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

HQS: 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin

Calc.: Calcein

Die größte statistisch signifikante Abweichung war jeweils beim Komplexbildner mit simulierter Drift zu verzeichnen. Die Komplexbildner ohne Drift wurden jedoch aufgrund der im Modell enthaltenen Interferenzen ebenfalls gestört.

Eine Drift von Calcein konnte nicht eindeutig erkannt werden. Alle Komplexbildner außer Morin wiesen eine signifikante Abweichung der Standardabweichung auf. Die F - Werte lagen für alle Komplexbildner in der gleichen Größenordnung, so daß lediglich die Aussage einer Drift im Array getroffen werden kann. Die Zuordnung der Drift als Calcein - Drift konnte nur indirekt erfolgen, da eine Drift der anderen Komplexbildner deutlich höhere F - Werte zur Folge hatte.

Morin konnte zwar ebenfalls eindeutig als Komplexbildner mit simulierter Drift erkannt werden, aber die F-Werte waren wesentlich geringer als bei Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon, Thiophenylaldehyd-Thiocarbohydrazon, 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin und 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol.

Die Phenylfluoron - Drift hatte nur kleine F - Werte zur Folge. Der Vergleich der berechneten Zusammensetzung der Testproben mit den vorgegebenen Konzentrationen ergab trotz der Phenylfluoron - Meßwerte mit simulierter Drift nur geringe Differenzen für Zink und Kupfer bzw. keine Unterschiede für Aluminium. Für das Testset mit falschen Morin - Meßwerten ergab sich der gleiche Sachverhalt. Aus diesem Grund lag die Vermutung nahe, Phenylfluoron und Morin seien unwichtig für das Array.

Die Optimierung der Meßwertauswahl (Kap. 4.4) sollte Aufschluß über nicht relevante Komplexbildner geben.

#### **4.4 Optimierung der Meßwertauswahl**

Zunächst wurde die Auswahl der Komplexbildner aufgrund der Eichkurven getroffen. Da die Eichkurven nur für einzelne Komponenten erstellt wurden, waren keine Aussagen über das Verhalten der Komplexbildner im Array für Mischungen möglich. Die Auswertungen der drei simulierten Arrays, insbesondere des Arrays in Kapitel 4.2.2, zeigten, daß die Analyse von Aluminium - Zink - Kupfer - Chrom - Mi-

schungen mit den vorab gewählten Komplexbildnern durchführbar ist. Die Unterschiede in den Eichkurven bzw. den Pattern waren ausreichend.

Das Array in Kapitel 4.2.2 bestand aus drei Komplexbildnern für Aluminium, zwei Komplexbildnern für Zink und zwei Komplexbildnern für Kupfer, wobei die Interferenzen der anderen Metallionen auf die Komplexbildner - Signale verschieden groß waren. Die Optimierung sollte nun Aufschluß darüber geben, ob alle Komplexbildner zur Analyse von drei Komponenten in Gegenwart einer chemischen Interferenz notwendig waren.

Wollte man alle Kombinationen dieser Komplexbildner auf ihre Eignung als Array untersuchen, so wären mehrere tausend Kalibrationen erforderlich. Dies ist wegen des hohen Rechenaufwands nicht praktikabel.

Unter der Annahme, daß das "mathematische" Verhalten eines Komplexbildners im Array unabhängig von den anderen Komplexbildnern ist, kann die Zahl der Kalibrationen um ca. den Faktor 1.000 (Kap. 4.4.1) bzw. 100 (Kap. 4.4.2) vermindert werden. Diese Annahme stellt insofern eine Näherung dar, als die zur Konzentrationsberechnung erforderlichen Faktoren  $t_a$  in Abhängigkeit von der Komplexbildner - Kombination errechnet werden.

Es wurden zwei verschiedene Optimierungsverfahren durchgeführt und die Ergebnisse miteinander verglichen.

#### 4.4.1 Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit

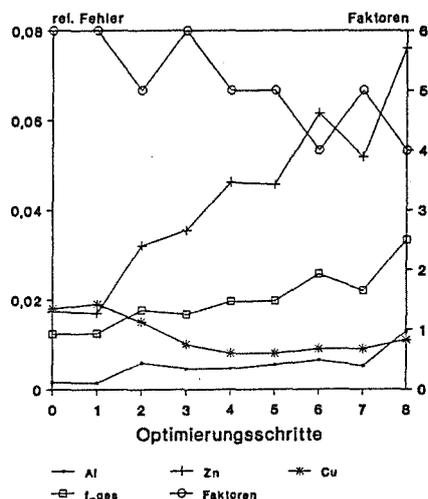
Die theoretische Begründung dieses Optimierungsverfahrens basiert auf den Annahmen der Linearität und Additivität der Eichkurven für alle Komponenten. Sofern diese Voraussetzungen erfüllt sind, stellen die Steigungen der Eichkurven ein Maß für die partiellen Empfindlichkeiten dar, aus denen sich die Eichmatrix zusammensetzt (Tab. 8).

Entsprechend wurde zur Berechnung der Empfindlichkeit eines Arrays nach Gl. 31 die Eichmatrix  $\underline{B}$  aus den Steigungen der Eichkurven in Kapitel 4.1 zusammengesetzt, wobei die Meßwerte der Komplexbildner die Spalten und die Komponenten die Zeilen bildeten. Wie in Kapitel 2.7 beschrieben wurden sukzessive die Meßwerte mit dem geringsten Beitrag zur Empfindlichkeit eliminiert. Da die erforderliche

Zahl an Meßwerten unbekannt war, wurde die Optimierung zunächst bis zur mindest erforderlichen Anzahl an Meßwerten (vier) durchgeführt. Die Ergebnisse sind im Anhang 6.3 aufgeführt.

Nacheinander wurden die Meßwerte bzw. Komplexbildner Calcein 498/516 (5 Minuten), Calcein 498/516 (1 Minute), Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon, Phenylfluoron, Calcein 472/500 (5 Minuten), Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/450, Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/470, 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol und Calcein 472/500 (1 Minute) entfernt. Die Ergebnisse sind tabellarisch im Anhang 6.4 aufgeführt.

Während jedes Optimierungsschrittes resultierte ein für diesen Schritt optimales Array. Das tatsächlich optimale Array sollte durch Vergleich der Bestimmungsfehler des Arrays für Aluminium, Zink und Kupfer bestimmt werden. In Abb. 33 sind die Fehler, bezogen auf die mittlere Konzentration des jeweiligen Elementes im Kalibrationsdatensatz, gegen die Optimierungsschritte aufgetragen.



Nr. 0: vollständiges Array

Nr. 1: Nr. 0 ohne Calcein 498/516 (5 min.)

Nr. 2: Nr. 1 ohne Calcein 498/516 (1 min.)

Nr. 3: Nr. 2 ohne Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon

Nr. 4: Nr. 3 ohne Calcein 472/500 (5 min.)

Nr. 5: Nr. 4 ohne Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/450

Nr. 6: Nr. 5 ohne Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/470

Nr. 7: Nr. 6 ohne 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

Nr. 8: Nr. 7 ohne Calcein 472/500 (1 min.)

Abb. 33 Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit

Der Fehler bei der Ermittlung der Aluminium - Konzentrationen nimmt beim 2. Optimierungsschritt zu und bleibt bis zum 8. Optimierungsschritt konstant. Dagegen verringert sich der Fehler für Kupfer ab dem 1. Optimierungsschritt. Bei der Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit nimmt der Fehler der Zink - Bestimmung zu. Nach Entfernen von Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon (2. Schritt) stieg der Fehler an. Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon wurde als Zink - Komplexbildner zugefügt. Die Zunahme des Fehlers nach Entfernen von Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon belegt seine Wichtigkeit für die Ermittlung der Zink - Konzentration, obwohl dessen Beitrag zur Empfindlichkeit des Arrays klein ist. Insgesamt nahm der mittlere Fehler trotz der Steigerung der Empfindlichkeit des Arrays zu.

Die Zahl der für das jeweilige Array relevanten Faktoren ist in Abb. 33 ebenfalls für die einzelnen Optimierungsschritte aufgetragen. Es werden zwar für zwei Arrays (6. und 8.) die zu erwartenden vier Faktoren gefunden, jedoch ist der Fehler bei der Konzentrationsberechnung immer größer als für das ursprüngliche Array.

Die Ergebnisse der Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit zeigen, daß das univariate Verhalten der Komplexbildner nicht auf die Analyse von Mischungen übertragbar ist. Die Konzentrationsbereiche der Elemente in den Kalibrationsmischungen entsprechen zwar den dynamischen Bereichen der Komplexbildner, jedoch ist aufgrund der konkurrierenden Komplexbildung der Komponenten in den Mischungen der dynamische Bereich der Komplexbildner früher überschritten (extreme Proben). Die extremen Proben beeinflussen das Modell stark und dürfen deshalb nicht vernachlässigt werden.

Ab dem 5. Optimierungsschritt ergaben sich auch Probleme durch Kollinearitäten in der Eichmatrix. Die partiellen Empfindlichkeiten von Calcein nach einer und fünf Minuten sowie von Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/450 und 380/470 waren sich ähnlich. Diese Kollinearitäten betrafen somit die kinetische Information von Calcein über Aluminium und die Unterschiede der Emissionsmaxima des Zink - und Aluminium - Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Komplexe. Mit zunehmender Entfernung von Meßwerten bzw. Komplexbildnern wirkten sich diese Kollinearitäten stärker aus, so daß manche Determinanten zu Null berechnet wurden. Diese Fälle mußten ausgeschlossen werden.

Kollineare Meßwerte wurden immer nacheinander entfernt. Die Zunahme des Fehlers zeigt jedoch, daß diese Informationen wichtig für das Kalibrationsmodell sind. Diese Kollinearitäten beruhen ausschließlich auf univariaten Informationen, die demzufolge nicht zur Optimierung der Meßwertauswahl herangezogen werden dürfen.

Die unterschiedlichen Meßfehler der Komplexbildner werden bei diesem Optimierungsverfahren nicht berücksichtigt. Es ist jedoch denkbar, daß ein Komplexbildner zwar große partielle Empfindlichkeiten aufweist, gleichzeitig aber auch einen großen Meßfehler. In diesem Fall kann sich der Komplexbildner nachteilig auf die Berechnung der Faktoren  $t_a$  und damit auf die Bestimmung der Zusammensetzung der Mischung auswirken. Solche Komplexbildner müssen aus dem Array entfernt werden. Aus diesem Grund wurde eine Optimierung nach minimalem Fehler durchgeführt.

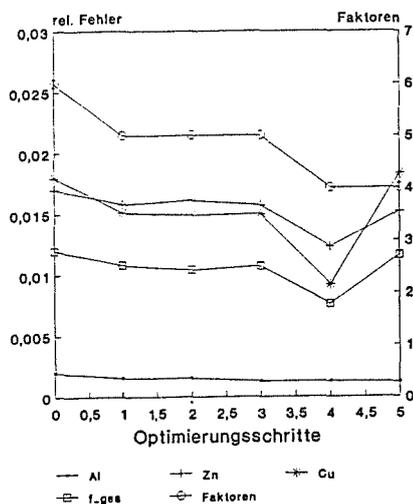
#### 4.4.2 Optimierung nach minimalem Fehler

In Anlehnung an die Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit wurden auch hier sukzessive die Meßwerte entfernt und die Optimierung für jeweils einen Schritt vorgenommen.

Für jede sich auf diese Weise ergebende Kombination von Meßwerten wurde eine vollständige Kalibration durchgeführt und die Fehler für Aluminium, Zink und Kupfer relativ zu den mittleren Konzentrationen des Kalibrationsdatensatzes berechnet. Derjenige Meßwert, dessen Streichung die kleinsten Fehler bewirkte, wurde aus dem Array entfernt. Dies wurde solange wiederholt, bis die resultierenden Fehler über den Fehlern des ursprünglichen Arrays lagen. Die Ergebnisse sind in Anhang 6.3 aufgeführt.

Nacheinander wurden Morin, Calcein 488/508 (1 Minute), Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/470, Phenylfluoron und Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/450 entfernt. Abb. 34 zeigt die Entwicklung der Fehler mit zunehmender Optimierung.

Bis zum 4. Optimierungsschritt verringerten sich die Fehler bei der Konzentrationsberechnung. Weitere Optimierungsschritte erbrachten größere Fehler, so daß das optimale Array nach dem 4. Optimierungsschritt erreicht war. Der Vorteil dieses Optimierungsverfahrens liegt in der Möglichkeit des direkten Vergleichs von Arrays nach verschiedenen Optimierungsschritten sowie der Verwendung multivariater Daten. Die Ergebnisse sind tabellarisch im Anhang 6.4 aufgeführt.



Nr. 0: vollständiges Array

Nr. 1: Nr. 0 ohne Morin

Nr. 2: Nr. 1 ohne Calcein 488/508 (1 min.)

Nr. 3: Nr. 2 ohne Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/470

Nr. 4: Nr. 3 ohne Phenylfluoron

Nr. 5: Nr. 4 ohne Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/470

Abb. 34 Optimierung nach minimalem Fehler

Die Zahl der relevanten Faktoren sollte mit der Zahl der Komponenten und Interferenzen übereinstimmen. Dies wurde für das optimierte Array gefunden. In Abb. 34 ist die mittels "cross validation" ermittelte optimale Zahl an Faktoren für die simulierten Arrays von allen Optimierungsschritten aufgetragen. Sie betrug für das ursprüngliche Array sechs. Nach Entfernen von Morin (1. Schritt) und Phenylfluoron (4. Schritt) verringerte sich die Zahl der Faktoren um jeweils einen Faktor, d.h. diese beiden Komplexbildner belegten je einen ganzen Faktor. Die Verbesserung der Analyseergebnisse nach Entfernen dieser Komplexbildner unterstrich somit die in Kapitel 4.3 festgestellte Unwichtigkeit von Morin und Phenylfluoron innerhalb der vorgegebenen ersten Auswahl von Komplexbildnern.

## 4.5 Sensoren

Mit der Arraysimulation in Lösung konnte die Eignung des Konzepts "Sensorarray mit chemometrischer Auswertung" unter Beweis gestellt werden. In unbekanntem Proben konnten Aluminium mit einem Fehler von 5%, Zink mit maximal 10% und Kupfer mit maximal 8% Fehler bestimmt werden. Die Anwesenheit einer nicht direkt meßbaren, jedoch störenden Komponente konnte zugelassen werden. Eine Überbestimmung durch mehr Komplexbildner als Komponenten verbesserte die Bestimmung von Zink und Aluminium. Das für praktische Anwendungen notwendige Erkennen von falschen Proben bzw. driftenden Sensoren war ebenfalls möglich.

Die Ergebnisse der Arraysimulation sollten auf ein Sensorarray übertragen werden. Hierzu wurden zunächst alle Komplexbildner, die für die Arraysimulation verwendet wurden, immobilisiert und auf ihre Eignung zur Herstellung von Sensoren überprüft. Mit diesen Sensoren sollte ein Sensorarray, vergleichbar mit dem Array in Kapitel 4.2.2, zusammengestellt werden und die Ergebnisse der Arraysimulation für das Sensorarray nachvollzogen werden.

### 4.5.1 Silanisierung von Glas

Gemäß den ausgewählten Reaktionsschemata (Kap. 2.2.2) wurde Glaspulver mit 3-Epoxy-Propyloxy-Triethoxysilan (Abb. 3) sowie mit N-(Aminoethyl)-3-Propylamin-Triethoxysilan (Abb. 2) silanisiert. Die Oberflächenkonzentration an Silan ist bestimmend für die Menge an immobilisierten Komplexbildner und damit für den dynamischen Bereich des chemischen Sensors. Deshalb wurde zunächst - ausgehend von einer Literaturvorschrift /21/ - für die Silanisierung von Glaspulver mit N-(Aminoethyl)-3-Propylamin-Triethoxysilan versucht, über die Reaktionsbedingungen Einfluß auf die Oberflächenbelegung des Glaspulvers zu nehmen. Es wurden die Silankonzentration, die Temperatur, die Reaktionsdauer und das Lösungsmittel variiert. Die Oberflächenkonzentration des Silans wurde mit der Thermogravimetrie und Verbrennungsanalyse ermittelt.

In Tab. 18 sind die Ergebnisse aufgeführt.

Tab. 18: Einfluß der Reaktionsbedingungen auf die Oberflächenkonzentration an Silan

Einwaage Silan in g	Tempe- ratur °C	Dauer in h	Lösungs- mittel	Verbrennungs- analyse · 10 <sup>-4</sup> mol/g	Thermogravi- metrie · 10 <sup>-4</sup> mol/g
0.208	65	4	Ethanol	2.99	2.93
1.575	65	4	Ethanol	4.40	4.33
2.792	65	4	Ethanol	5.72	5.61
15.200	65	4	Ethanol	5.73	5.79
1.575	65	2	Ethanol	4.16	3.90
1.575	65	8	Ethanol	4.72	4.70
1.575	65	4	Toluol		4.02
1.575	100	4	Toluol		4.79

Zur Auswertung der Thermogravimetrie wurde angenommen, daß nur der organische Rest des Silans desorbiert, d.h. daß ein Bruch der Si - C - Bindung erfolgt. Da den Proben geringe Mengen Wasser anhafteten, wurde die Einwaage um diesen zuvor bestimmten Gewichtsverlust vermindert. Die ermittelten Gewichtsverluste wurden um den temperaturbedingten Auftrieb korrigiert. Zur Berechnung der Oberflächenbelegung in molarer Einheit wurde die Molmasse des organischen Restes des Silans (101 g/mol) verwendet.

Die Verbrennungsanalyse ergibt den Gesamtkohlenstoffgehalt der untersuchten Probe. Unter Berücksichtigung der Stöchiometrie des organischen Restes wurde über den Kohlenstoffgehalt die molare Oberflächenbelegung des Silans berechnet. Die Ergebnisse beider Analysemethoden stimmen gut überein.

Die Ergebnisse zeigten, daß eine Einflußnahme der Oberflächenbelegung des Glaspulvers nicht über eine Zehnerpotenz hinaus realisierbar war. Damit kann eine Beeinflussung des dynamischen Bereichs eines Sensors über die Immobilisierungsreaktion nicht erreicht werden.

#### 4.5.2 Morin-Sensor

Morin wurde gemäß dem Reaktionsschema in Abb. 3 über eine Friedel - Crafts-Alkylierung immobilisiert. Mittels Thermogravimetrie wurden  $2.3 \cdot 10^{-4}$  mol Morin /g Glaspulver ermittelt. Hieraus kann die von einem Morin - Molekül beanspruchte Fläche zu  $1.25 \text{ nm}^2$  abgeschätzt werden. Der Platzbedarf von Morin wurde zu  $0.35 \text{ nm}^2$  berechnet<sup>1)</sup>. Dies legt eine monomolekulare Bedeckung der Sensoroberfläche nahe und kann als Hinweis auf eine ausschließliche Chemisorption des Morins verstanden werden.

Abb. 35 zeigt die spektrale Änderung bei Eintauchen des Sensors in eine Aluminium enthaltende Lösung (Spektrum b). Das Maximum der Emission ist gegenüber der Fluoreszenz des Aluminium - Komplexes in Lösung nicht verschoben. Der Sensor ist voll reversibel. Die Ansprechzeit, d.h. die Zeit bis zum Erreichen eines konstanten Meßwertes betrug 5 Minuten. Der Blindwert wurde nach maximal 25 Minuten wieder erreicht (Abklingzeit). Die Meßwerte konnten während eines Zeitraumes von 8 bis 10 Stunden mit einem Fehler von 3% reproduziert werden. Danach mußte erneut kalibriert werden, um größere Fehler zu vermeiden.

Abb. 36 zeigt die Eichkurve eines Morin-Sensors für Aluminium. Sie verläuft bis zu 3 mg/l Aluminium linear (dynamischer Bereich). Die Bestimmungsgrenze (Kap. 2.1.4) liegt bei 0.7 mg/l Aluminium. Im Vergleich dazu beträgt die Bestimmungsgrenze für den Aluminium - Nachweis mit Morin in Lösung 0.05 mg/l. Die Verschlechterung der Bestimmungsgrenze um den Faktor 10 kann durch eine veränderte Komplexbildungskonstante nach der Immobilisierung von Morin sowie den durch Streuung und Reflexion des Lichtes an der Sensoroberfläche bedingten erhöhten Untergrund verursacht sein.

Komplexbildungskonstanten werden mit der Absorptionsspektroskopie gemessen /47/, da das Verhalten des Komplexbildners im Grundzustand für die Komplexbildung entscheidend ist. Dies war jedoch wegen der zu geringen Empfindlichkeit der Absorptionsspektroskopie nicht durchführbar für die immobilisierten Komplexbildner, so daß die Hypothese der veränderten Komplexbildungskonstanten nicht überprüft werden konnte.

---

<sup>1)</sup>Die Berechnung erfolgte nach der SCF-Methode. Sie wurde von Dr. H. Horn, Institut für Physikalische Chemie der Universität Karlsruhe durchgeführt.

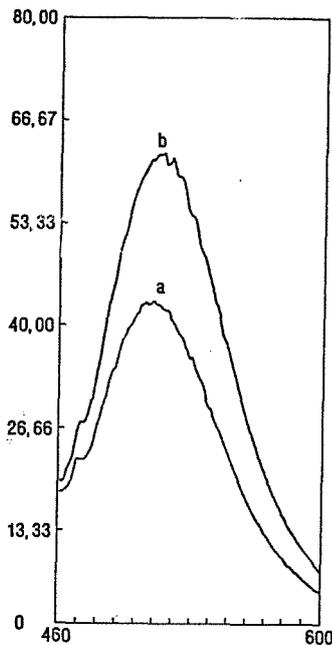


Abb. 35 Fluoreszenzspektrum des Morin-Sensors  
a:Blindspektrum  
b: 5 mg/l Aluminium

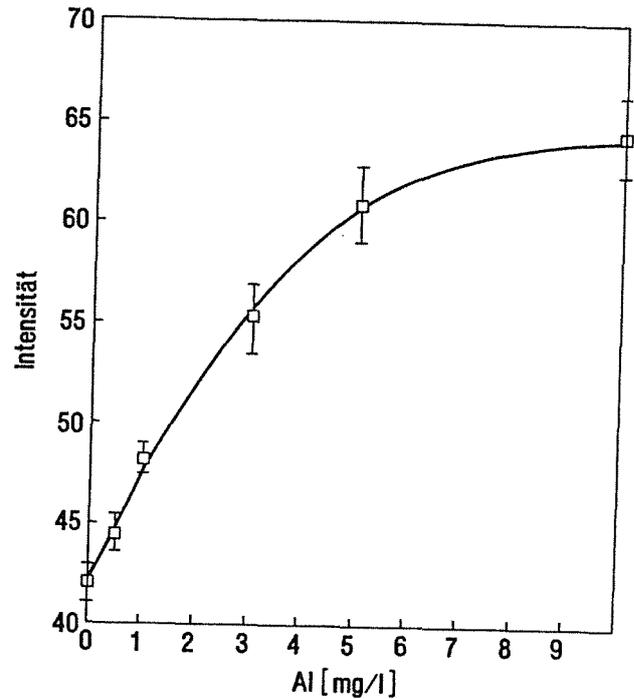


Abb. 36 Eichkurve des Morin-Sensors für Aluminium

Abb. 35 zeigt auch, daß der Sensor im Gegensatz zu Morin in Lösung ein Blindspektrum aufwies (Spektrum a). Es sind zwei Ursachen denkbar.

1. Controlled porous glass kann bis zu 2.7%  $\text{Al}_2\text{O}_3$  enthalten /48/. Die Immobilisierung von Morin erfolgte bei  $100^\circ\text{C}$  in Eisessig. Die Glasoberfläche wird selbst in Säuren bei Temperaturen oberhalb  $30^\circ\text{C}$  angegriffen, so daß Aluminium freigesetzt werden kann. Das freigesetzte Aluminium bildet mit Morin einen Komplex, so daß während der Immobilisierungsreaktion neben viel freiem Morin wenig Morin-Aluminium-Komplex vorliegt. Es wird teilweise der Aluminium - Morin - Komplex immobilisiert. Bestärkt wird dieser Erklärungsansatz durch die folgende Beobachtung: Beim erstmaligen Eintauchen des Sensors in eine Blindlösung nimmt das Blindspektrum ab. Nach einigen Stunden wird ein konstantes Blindspektrum erreicht. Es zeigte sich, daß der Sensor erst danach eine optimale Empfindlichkeit erreicht hat. Gegen diese Erklärung des Blindspektrums spricht, daß der Sensor innerhalb von 25 Minuten voll reversibel ist. Das komplexierte Aluminium müßte demnach vollständig abgegeben werden.

2. Wie Messungen zeigten (Tab. A7, Anhang 6.1), weist Morin in Eisessig eine Eigenfluoreszenz mit einem Emissionsmaximum bei 500 nm auf. Der Silikonkautschuk, mit dem das Glaspulver mit immobilisiertem Morin auf einem transparenten Träger fixiert wurde, gibt beim Aushärten Essigsäure ab. Bedingt durch den hohen Siedepunkt von Essigsäure (117.9 °C) verbleibt Essigsäure auf der Sensoroberfläche und bewirkt die Eigenfluoreszenz von Morin. Bei Kontakt mit den Probelösungen wird die Essigsäure nach und nach entfernt, das Blindspektrum sollte kleiner werden. Die Verminderung des Blindspektrums wurde während mehrtägigen Meßzyklen tatsächlich festgestellt.

Die Bestimmung von Aluminium mit dem Morin - Sensor wurde durch Kupfer und Chrom ab einem Konzentrationsverhältnis von 3 bzw. 10 interferiert (Tab. 19).

Tab. 19: Interferenz von Kupfer, Zink und Chrom auf den Aluminium-Nachweis mit dem Morin-Sensor

Aluminium mg/l	Kupfer mg/l	Intensität
1.0	0.0	20.41
1.0	5.0	16.70
3.0	0.0	25.02
3.0	10.0	20.54
Aluminium mg/l	Zink mg/l	Intensität
1.0	0.0	29.24
1.0	5.0	30.40
1.0	10.0	30.52
1.0	50.0	28.09
Aluminium mg/l	Chrom mg/l	Intensität
5.0	0.0	135.36
5.0	5.0	133.31
5.0	50.0	112.32

### 4.5.3 Calcein-Sensor

Calcein wurde sowohl durch die Friedel-Crafts-Alkylierung als auch als Thioharnstoffderivat immobilisiert. Abb.27 zeigt die Fluoreszenzspektren nach Eintauchen in eine Zink haltige Lösung (b) bzw. in eine Blindlösung (a). Das Blindspektrum gleicht dem Spektrum von freiem Calcein in Lösung. Es ist nicht verschoben. Dagegen ist die in Lösung beobachtete Verschiebung des Spektrums des Zink - Komplexes nicht feststellbar. Es zeigte sich lediglich eine starke Erhöhung der Fluoreszenzintensität bei Zugabe von Zink. Die Ansprechzeit betrug 2 Minuten. Sie ist nur unwesentlich länger als die Komplexbildungszeit in Lösung. Der Blindwert war nach Austausch der Lösung gegen eine Blindlösung nach maximal 25 Minuten wieder erreicht. Die Bestimmungsgrenze lag bei 0.5 mg/l Zink im Vergleich zu 0.05 mg/l Zink in Lösung.

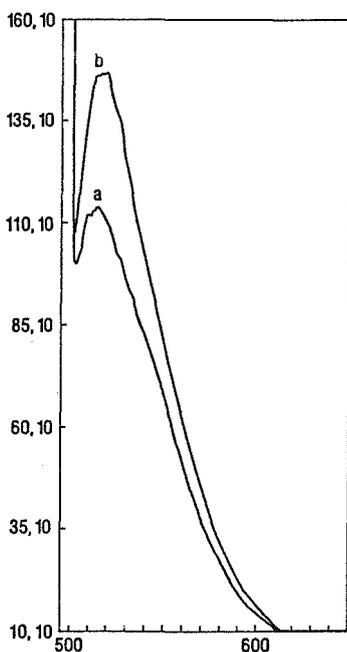


Abb. 37 Fluoreszenzspektrum des Calcein-Sensors  
a:Blindspektrum  
b: 20 mg/l Zink

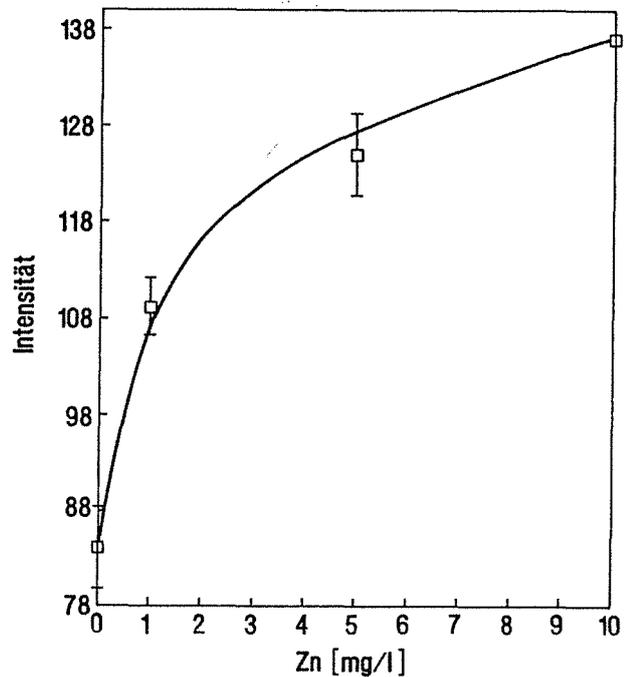


Abb. 38 Eichkurve des Calcein-Sensors für Zink

Abb.28 zeigt die Eichkurve eines Calcein-Sensors. Die Eichkurve konnte während drei Tagen reproduziert werden. Danach war eine Nachkalibrierung erforderlich. Der dynamische Bereich des Sensors reicht von 0.5 mg/l bis 1 mg/l Zink und ist da-

mit gegenüber Calcein in Lösung stark verkürzt (0.05 - 0.5 mg/l Zink). Die frühe Sättigung des Sensors kann durch die begrenzte Menge an immobilisierbarem Calcein erklärt werden. Eine Einflußnahme der Oberflächenbelegung des Sensors mit Calcein wäre von Vorteil, hatte sich jedoch als undurchführbar erwiesen (4.5.1). Der dynamische Bereich kann somit nur durch eine Verminderung der Bestimmungsgrenze erweitert werden, was durch eine verbesserte optische Detektion realisierbar scheint.

Die Empfindlichkeit des Calcein-Sensors im dynamischen Bereich lag bei 25 Fluoreszenzeinheiten pro mg/l Zink. Sie ist damit um Faktor 14 geringer gegenüber dem Zink - Nachweis in Lösung.

#### 4.5.4 Bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon-Sensor

Es wurde das N-Methyl-Amino-Methyl-Derivat von Bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon synthetisiert und über die Thioharnstoffreaktion (Abb. 2) auf CPG immobilisiert. Abb. 39 zeigt die spektrale Änderung (Spektrum b) bei Zugabe von Zink im Vergleich zum Blindspektrum (a). Das Fluoreszenzspektrum ist gegenüber dem Spektrum in Lösung nicht verschoben, d.h. die optischen Eigenschaften von Bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon wurden durch die Immobilisierung nicht verändert. Der Bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor zeigt ein Blindspektrum.

Die Ansprech - und Abklingzeit betragen jeweils 10 Minuten. Die Bestimmungsgrenze liegt bei 5 mg/l Zink. In Abb.30 ist die Eichkurve eines Bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon-Sensors dargestellt. Mit diesem Sensor waren Messungen über sechs Stunden ohne Drift möglich. Die Eichkurve ist von 5 mg/l Zink bis 50 mg/l Zink linear. Die Empfindlichkeit ist um Faktor 30 geringer als in Lösung. Sie betrug 0.4 Fluoreszenzeinheiten pro mg/l Zink. Eine verminderte Empfindlichkeit kann durch eine kleinere Komplexbildungskonstante im Vergleich zum gelösten Komplexbildner begründet sein. Die Lumineszenzintensität ist in erster Näherung proportional zur Konzentration des gebildeten fluoreszierenden Komplexes. Anhand des Massenwirkungsgesetzes ist ersichtlich, daß die Komplexbildungskonstante in den Proportionalitätsfaktor eingeht.

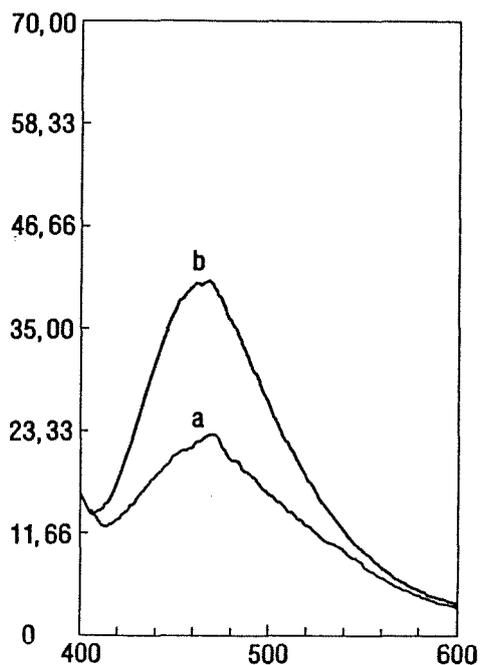


Abb. 39 Fluoreszenzspektrum des  
Bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon -  
Sensors  
a: Blindspektrum  
b: 30 mg/l Zink

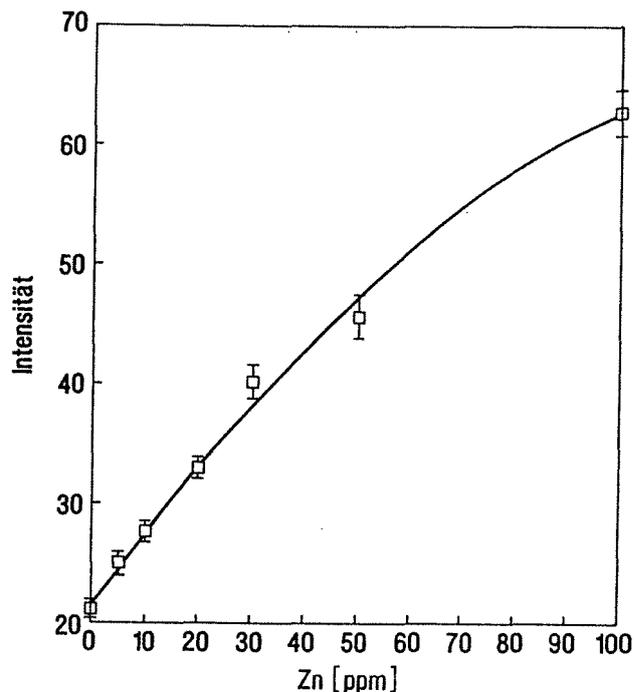


Abb. 40 Eichkurve des bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon -  
Sensors für Zink

Aluminium interferiert, wie Tab. 20 zeigt, bereits ab 1 mg/l. Jedoch ist die in Lösung beobachtete Verschiebung des Fluoreszenzspektrums bei der Bildung des Aluminium - Komplexes nicht feststellbar.

Tab. 20: Interferenz von Aluminium auf die Zink-Bestimmung mit dem bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon-Sensor

Konzentration Al <sup>3+</sup> in mg/l	Intensität
0.0	27.45
1.0	31.68
10.0	29.94
100.0	31.04

#### 4.5.5 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol-Sensor

4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol wurde nach der Synthese als Aminoderivat über die Thioharnstoffreaktion (Abb. 2) immobilisiert. Mittels Thermogravimetrie wurde ein Oberflächenbelegung von  $3.2 \cdot 10^{-5}$  mol 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol/g Glaspulver ermittelt.

Abb. 41 zeigt den Untergrund des chemischen Sensors mit 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol (Spektrum a), das Spektrum nach Zugabe von Aluminium (Spektrum b) sowie das Differenzspektrum (Spektrum c). Das Maximum der Emission ist im Vergleich zum gelösten Komplexbildner um 10 nm zu größeren Wellenlängen verschoben. Vermutlich handelt es sich um einen Substituenteneffekt, da durch die Immobilisierung die Aminogruppe zu einer Thioharnstoffgruppe umgesetzt wurde.

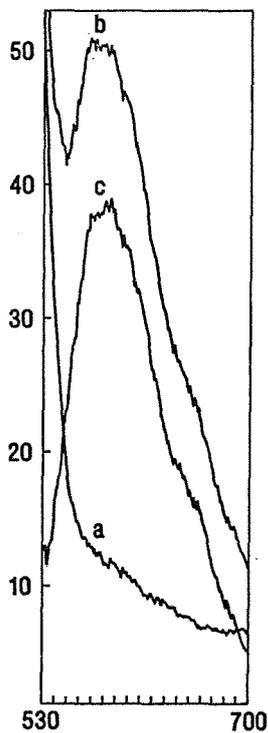


Abb. 41 Fluoreszenzspektrum des 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol  
a: Untergrund in Pufferlösung  
b: 5 mg/l Aluminium  
c: Differenzspektrum

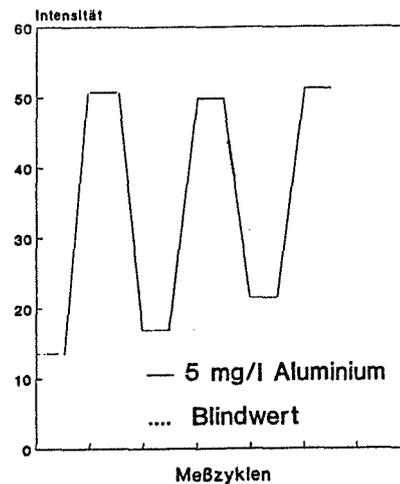


Abb. 42 Messung von Aluminium-Lösungen mit einem 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

Nach Austausch der Aluminium enthaltenden Lösung gegen eine Blindlösung verringerte sich die Fluoreszenzintensität. Der Blindwert wurde jedoch nicht mehr erreicht, ein Teil des zuvor komplexierten Aluminiums blieb auf der Sensoroberfläche zurück. Bei Wiederholungsmessungen zeigte der Sensor für die gleiche Aluminiumkonzentration das gleiche Signal, der Blindwert nach Eintauchen in eine Pufferlösung stieg jedoch an (Abb. 42). Mit diesem Sensor konnte zwar reproduzierbar, jedoch nicht reversibel gemessen werden. Vermutlich ist die Irreversibilität dieses ansonsten funktionierenden Sensors auf die zu große Komplexbildungskonstante des Aluminium-Komplexes zurückzuführen. Wie in Kapitel 2.1 ausgeführt, ist die Reversibilität für große Komplexbildungskonstanten nicht mehr gegeben, denn es erfolgt eine "Extraktion" des Metallions aus der Lösung auf die Sensoroberfläche.

Bestärkt wird diese Annahme durch die Tatsache, daß der Aluminium-Komplex auf der Sensoroberfläche selbst durch Eintauchen in 0.1 n NaOH nicht zerstört werden konnte, d.h. der Komplex ist stabiler als der  $\text{Al}(\text{OH})_4^-$  - Komplex.

#### 4.5.6 Immobilisierung von Phenylfluoron, Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon und 5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin

Amino-Phenylfluoron, 5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin und bis-(N-Methyl)-Aminomethyl-Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon wurden nach Synthese bzw. Modifizierung als Aminoderivate gemäß dem Reaktionsschema in Abb. 2 immobilisiert. Mittels Thermogravimetrie wurde eine Belegung von  $2.8 \cdot 10^{-5}$  mol Amino-Phenylfluoron/g Glaspulver bzw.  $1.05 \cdot 10^{-4}$  mol 5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin/g Glaspulver ermittelt. Diese Ergebnisse können als Hinweis auf eine monomolekulare Bedeckung der Glasoberfläche mit Komplexbildner verstanden werden, da die Oberflächenkonzentration des Komplexbildners kleiner als diejenige des Silans ( $4.79 \cdot 10^{-4}$  mol/g) ist.

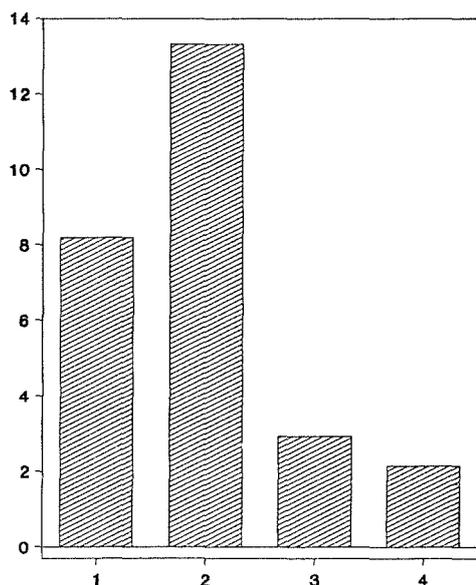
Im Gegensatz zu Messungen in Lösung konnte bei diesen drei chemischen Sensoren keine spektrale Änderung in Abhängigkeit der Konzentration von Aluminium, Zink oder Kupfer festgestellt werden. Jedoch konnte die Eigenfluoreszenz von Phenylfluoron auf der Sensoroberfläche gemessen werden.

Die Tatsache, daß diese drei Komplexbildner im Gegensatz zu den anderen gewählten Komplexbildner nach Immobilisierung keine Reaktion mehr auf Metallionen zeigten, kann vermutlich auf ihre Hydrophobie zurückgeführt werden. Die daraus folgende schlechte Benetzbarkeit der Sensoroberfläche gestattet keinen ausreichenden Austausch der Metallionen zwischen wässriger Phase und Sensoroberfläche (Komplexbildner). Bestärkt wird diese Annahme durch Zhujun und Seitz /49/, die 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin (hydrophil) auf Cellulose immobilisierten und eine spektrale Änderung in Zink enthaltenden Lösungen beobachten konnten. Diese Sensoren stehen damit für ein Array nicht zur Verfügung.

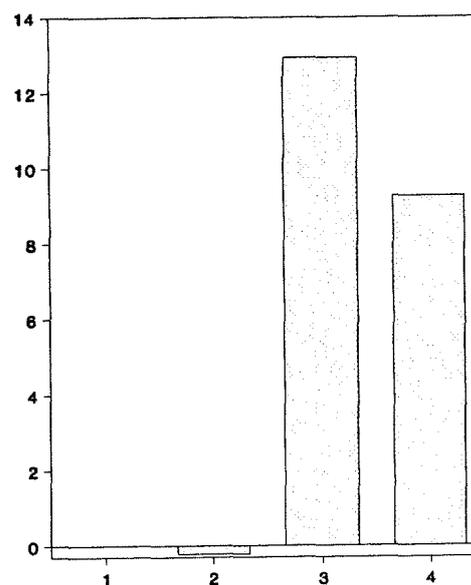
## 4.6 Sensorarray

Zur Verifizierung der Arraysimulation wurde ein Sensorarray zur Messung von Aluminium und Zink in Gegenwart von Chrom und bei verschiedenen pH Werten zusammengestellt. Da der Calcein - Sensor durch Aluminium blockiert wird, besteht das Sensorarray nur aus einem Morin - Sensor, einem bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor und einem Fluorescein - Sensor /46/.

Der bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor spricht auf Zink und Aluminium an. Die Interferenz durch Aluminium sollte mit dem Morin - Sensor kompensiert werden. Der Fluorescein - Sensor diente der Eliminierung des Matrixeffektes "pH Wert Schwankungen". Chrom störte den Morin - Sensor ab einem Konzentrationsverhältnis von 1 mg/l Chrom zu 1mg/l Aluminium, nicht jedoch den Bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor. Aus diesem Grund sollte es möglich sein, Chrom als chemische Interferenz zuzulassen. Abb. 33 zeigt die Pattern für Aluminium und Zink. Sie wiesen die notwendigen charakteristischen Unterschiede auf.



a) Aluminium



b) Zink

- 1: Morin 440/506 (1 min.)
- 2: Morin 440/506 (5 min.)
- 3: Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/450
- 4: Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/470

Abb. 43 Pattern des Sensorarrays

Es wurden 11 Mischungen mit jedem Sensor gemessen und ein erstes Kalibrationsmodell berechnet. Die Meßwerte sind in Tab. A8 in Anhang 6.1 aufgeführt. Die optimale Zahl von Faktoren betrug 3, d.h. eine Interferenz wurde nicht erkannt. Anhand der t-u-Diagramme in Abb. 44 bzw. der Regressionskoeffizienten in Tab. 21 (2. Spalte) sind starke Nichtlinearitäten in den Kalibrationsdaten zu erkennen.

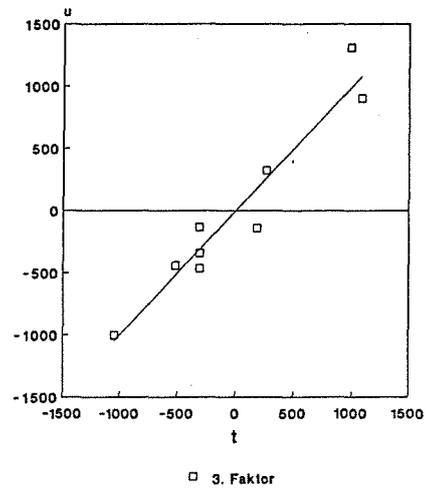
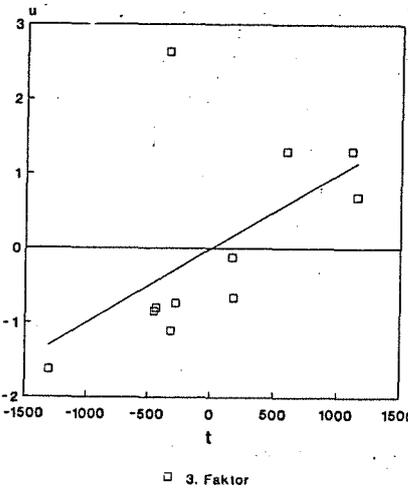
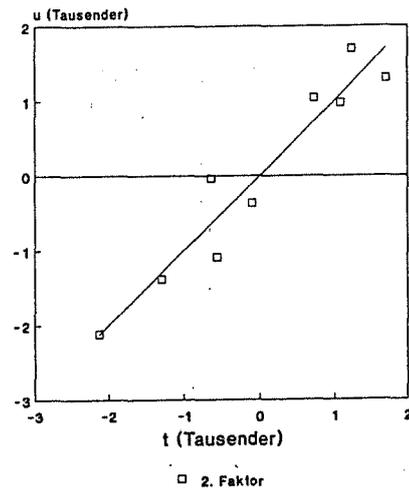
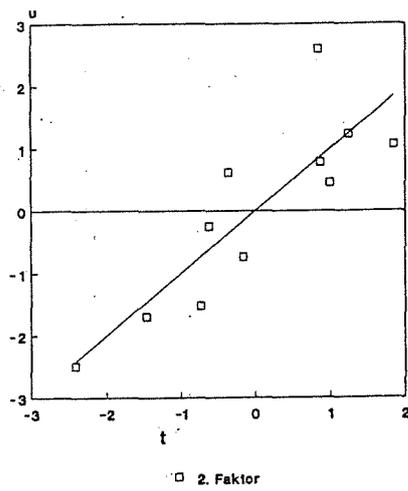
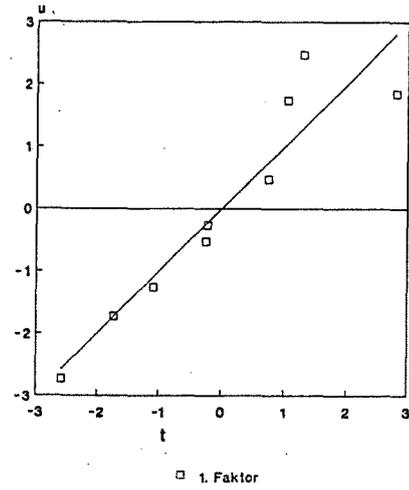
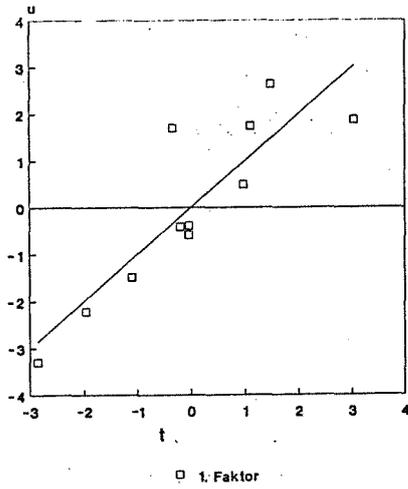
Eine zweifache Ausreißeranalyse (Tab. 22) ermittelte die Proben Nr. 9 und 11 als Ausreißer. Da der Kalibrationsdatensatz nur wenige Proben enthielt, war die Voraussetzung für den F - Test, die Normalverteilung der Proben, nicht gesichert. Aus diesem Grund wurden  $F_x$  und  $F_y$  nicht der Tabelle der F-Verteilung (Anhang 6.1, Tab. A1) entnommen. Es wurden diejenigen Proben, deren Standardabweichung den doppelten Betrag der mittleren Standardabweichung überschritten, als Ausreißer gemäß dem F - Test erkannt.

Probe Nr. 9 enthielt als einzige Probe Chrom im Überschuß, d.h. die Chrom - Konzentration war groß genug, um mit dem Morin - Sensor zu interferieren.

Wie die Ergebnisse der Ausreißeranalyse sowie die t-u-Diagramme zeigten, konnte der Einfluß von Chrom nicht allein durch das unterschiedliche Verhalten des Morin - und des bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensors bezüglich Chrom eliminiert werden.

Tab. 21: Korrelationskoeffizienten der linearen Relation zwischen den  $t$ - und  $u$ -Faktoren

Faktor	mit Ausreißer	ohne Ausreißer
1	0.87	0.93
2	0.85	0.95
3	0.56	0.96



a) 1. Kalibration mit Ausreißer

b) Kalibration ohne Ausreißer

Abb. 44 t-u-Diagramme der Kalibration des Sensorarrays

Tab. 22 a: 1. Ausreißeranalyse

Probe	$s(e_i)^2 \cdot 10^{-3}$	F	$h_i$	$s(f_i)^2$	F
1	6.488	-	0.487	0.450	-
2	5.820	-	0.271	0.340	-
3	12.510	-	0.421	0.282	-
4	6.494	-	0.189	0.906	-
5	4.959	-	0.100	1.005	-
6	46.025	3.11	0.426	0.650	-
7	7.269	-	0.491	0.228	-
8	19.343	1.31	0.332	0.104	-
9	13.279	-	0.197	4.005	2.33
10	0.917	-	0.960	0.122	-
11	39.893	2.69	0.127	10.841	6.30

$$s_{g,x}=0.0148; \quad F_x=2.0;$$

$$s_{g,y}=1.719; \quad F_y=2.0;$$

Tab. 22 b: 2. Ausreißeranalyse

Probe	$s(e_i)^2 \cdot 10^{-3}$	F	$h_i$	$s(f_i)^2$	F
1	13.634	1.70	0.202	0.839	-
2	11.435	1.42	0.970	0.157	-
3	9.989	1.24		2.233	1.34
4	3.124	-	0.522	0.075	-
5	1.600	-	0.291	3.246	1.95
6	3.488	-	0.496	0.115	-
7	22.568	2.81	0.317	0.353	-
8	12.904	1.61	0.130	1.008	-
9	1.473	-	0.881	8.540	5.14
10	0.180	-	0.569	0.059	-

$$s_{g,x}=0.0081; \quad F_x=2.0;$$

$$s_{g,y}=1.661; \quad F_y=2.0;$$

Probe Nr. 11 hatte den pH Wert 4.4. In Abb. 45 ist die pH Abhängigkeit des Arrays anhand einer Kalibrationsprobe dargestellt. Der bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor wurde im pH Bereich 4.4 bis 4.7 stärker durch den pH Wert der Lösung beeinflusst als oberhalb pH 4.7. Diese nichtlineare pH Abhängigkeit verursachte Störungen im Kalibrationsmodell. Abb. 46 zeigt die Eichkurve des Fluorescein - Sensors. Im Bereich pH 4 bis pH 5 verläuft die Eichkurve flacher als oberhalb von pH 5, d.h. der Fluorescein - Sensor wies eine entgegengesetzte pH Abhängigkeit als der bis-(N-Methyl)-3,3'-Methylamin-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor auf. Deshalb war der Einfluß des pH Wertes im Bereich von pH 4.4 bis pH 4.7 nicht modellierbar. Die Proben Nr. 9 und 11 wurden entfernt und ein zweites Modell berechnet.

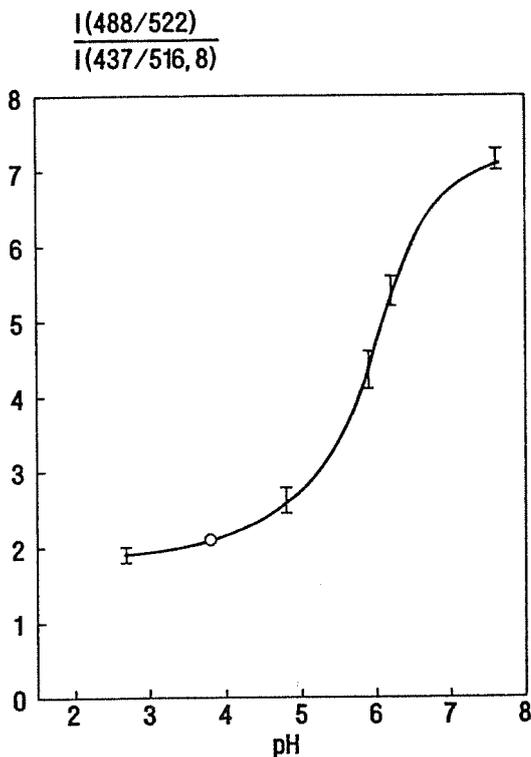
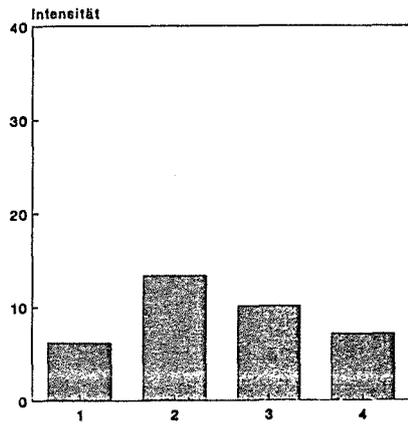


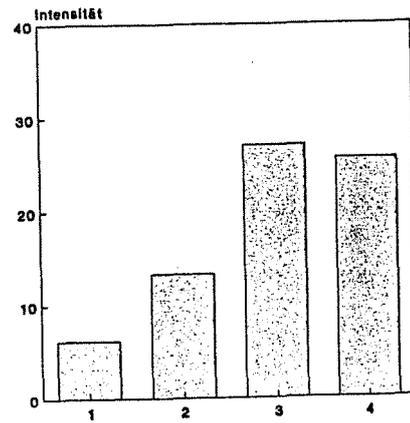
Abb. 46: Eichkurve des Fluorescein - Sensors

I(488/522): Anregung bei 488 nm, Emission bei 522 nm

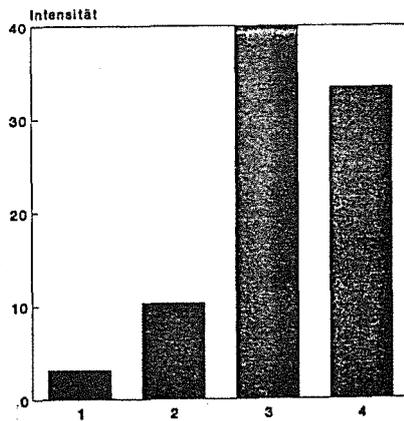
I(437/516.8): Anregung bei 437 nm, Emission bei 516.8 nm



a) pH 4.4



b) pH 4.7

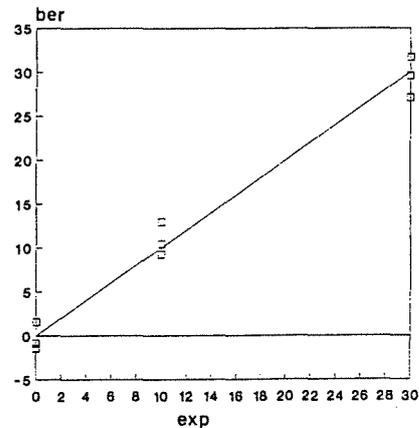
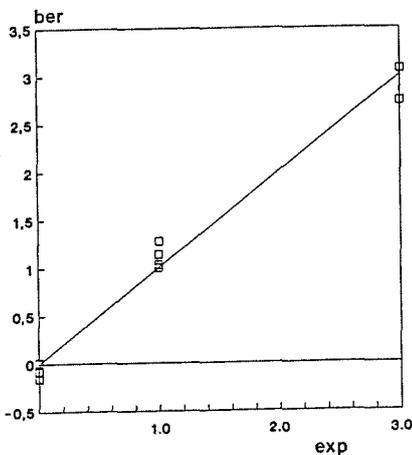


c) pH 5.4

Abb. 35: Einfluß des pH Wertes auf das Pattern des Sensorarray

Auch für das 2. Kalibrationsmodell wurden drei relevante Faktoren mittels "cross validation" gefunden. Dies stimmte jetzt mit der Zahl der Komponenten und Interferenzen überein, da in den Kalibrationsproben Chrom nur noch in Konzentrationen unterhalb dem sich störend auswirkenden Konzentrationsverhältnis enthalten war. Chrom war deshalb als Interferenz nicht mehr vorhanden. Die t-u-Diagramme in Abb. 44b sowie die Regressionskoeffizienten in Tab. 21 (3. Spalte) zeigen die verbesserte Linearität der Meßdaten.

In Abb. 47 sind die vorgegebenen Konzentrationen für Aluminium (Abb. 47a) und Zink (Abb. 47b) gegen die berechneten Konzentrationen aufgetragen. Die Berechnung erfolgte mit dem verbesserten Kalibrationsmodell.



a) Aluminium

b) Zink

Abb. 47 Ergebnisse der Aluminium - und Zink - Bestimmung mit dem Sensorarray (2. Kalibration)

ber: berechnete Konzentration in mg/l

exp: experimentell vorgegebene Konzentration in mg/l

Sowohl Aluminium als auch Zink wurden gut bestimmt. Im Vergleich zur Arraysimulation in Lösung wurden die Aluminium - Konzentrationen mit geringerer Ge-

nauigkeit berechnet. Dies ist auf die Überbestimmung von Aluminium im simulierten Array durch zusätzliche Komplexbildner zurückzuführen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die gleichzeitige Erfassung von Aluminium und Zink in Gegenwart geringer Chrom - Konzentrationen im pH Bereich 4.7 bis 5.4 mit einem Sensorarray möglich war. Die Ergebnisse der Arraysimulation ließen sich sinngemäß auf das Sensorarray übertragen.

## 5. Schlußbetrachtung

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung optisch-chemischer Sensoren, die auf bereits bekannten optischen Nachweisverfahren in Lösung basieren. Die Vorauswahl der Komplexbildner zur Herstellung der Sensoren geschah aufgrund univariater Informationen, den Eichkurven der Komplexbildner für die zu bestimmenden Metallionen Aluminium, Zink und Kupfer. Da die Selektivität der Sensoren aufgrund der nichtselektiven Komplexbildner nicht erwartet werden konnte, sollte sie durch Anwendung chemometrischer Methoden auf ein Sensorarray erzielt werden. Zur Überprüfung der Anwendbarkeit bereits existierender chemometrischer Verfahren wurden Arrays in Lösung simuliert und das geeignetste Verfahren ausgewählt. Im Anschluß wurden die günstigsten Komplexbildner in einer zur Immobilisierung geeigneten Form synthetisiert und immobilisiert. Aus den geeigneten Sensoren wurde dann ein Sensorarray zusammengestellt und Aluminium - Zink - Chrom - Mischungen im pH Bereich von 4.4 bis 5.4 analysiert.

Durch die Arraysimulationen konnte bestätigt werden, daß ein aus den ausgewählten Komplexbildnern bestehendes Array zur gleichzeitigen Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer geeignet ist. Die Anwendung der multivariaten Kalibrationsmethode partial least squares (PLS) auf simulierte Arrays war erfolgreich. Neben den zu bestimmenden Metallionen Aluminium, Kupfer und Zink konnte eine nicht direkt bestimmbare, störende Interferenz (Chrom) zugelassen werden, ohne daß die Qualität der Bestimmung sich verschlechterte.

Falsche Proben im Kalibrationsdatensatz wurden durch Anwendung des F - Tests gefunden. Nach Entfernen der erkannten falschen Proben war jedes Kalibrationsmodell deutlich verbessert. Die "leverages" der Proben erwiesen sich als wichtiges Zusatzkriterium.

Zur Beurteilung der Qualität eines Kalibrationsdatensatzes wurden die t-u-Diagramme hinzugezogen, anhand derer die Erfüllung einer wichtigen Voraussetzung des PLS-Algorithmus, die lineare Relation zwischen Meßdaten und Konzentrationsdaten, überprüft werden konnte. Auch an diesen Diagrammen wurde eine merkliche Verbesserung des Kalibrationsdatensatzes nach Entfernen der falschen Proben festgestellt.

Die erfolgreiche Kalibration eines Arrays kann somit mit Hilfe eines F - Tests der Meßdaten, eines F - Tests der mit dem zu überprüfenden Modell berechneten Konzentrationen, der "leverages" der Kalibrationsproben und den t-u-Diagrammen für das Kalibrationsmodell sichergestellt werden.

Die Konzentrationsbereiche der einzelnen Metallionen in den Kalibrationsproben lagen innerhalb des dynamischen Bereichs der Komplexbildner-Eichkurven. In Mischungen wurden durch konkurrierende Komplexbildung interferierender Ionen die dynamischen Bereiche eher überschritten, woraus sich geringe Nichtlinearitäten ergaben. Diese Proben sind extreme Proben, die im Kalibrationsdatensatz verbleiben müssen, damit der Meßbereich von üblicherweise einer Zehnerpotenz erhalten bleibt. Die extremen Proben wurden eindeutig von falschen Proben unterschieden. Die daraus resultierenden geringen Nichtlinearitäten konnten mit dem PLS-Algorithmus modelliert werden.

Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, die Komponenten der Mischungen überzubestimmen, d.h. für jedes Metallion sollten mehrere hauptsächlich auf dieses Ion ansprechende Komplexbildner im Array vorhanden sein. So konnte Aluminium immer mit kleinerem Fehler ( $< 5\%$ ) bestimmt werden als Zink ( $< 10\%$ ) und Kupfer ( $< 8\%$ ).

Der Einfluß von Matrixeffekten wurde am Beispiel von pH Wert Schwankungen untersucht. Da die meisten Komplexbildner über Hydroxygruppen am komplexierenden Zentrum verfügten, waren die Meßsignale stark pH abhängig. Die mit steigendem pH Wert zunehmende Deprotonierung der Hydroxygruppen bewirkte höhere Blindpektren (Phenylfluoron, Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon, Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon) bzw. das Entstehen eines Blindspektrums (4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol), da die Deprotonierung einen ähnlichen Effekt auf die Elektronenniveaus der Komplexbildner hat wie die Komplexierung von Metallionen. Das um einen pH Indikator (Fluorescein) erweiterte Array konnte den Einfluß des pH Wertes nicht vollständig kompensieren. Aluminium und Zink wurden mit größerem Fehler bestimmt (18% bzw. 41%), Kupfer konnte nicht mehr quantifiziert werden. Unter der Voraussetzung, daß die pH Abhängigkeit der Komplexbildner nach ihrer Immobilisierung auf Glas erhalten bleibt, könnte ein Array für Lösungen mit nicht konstantem pH Wert nur für on-line - Messungen angewandt werden. On-line - Messungen sind im Zusammenhang mit der Fließinjektionsanalyse denkbar, wobei das Array die Detektionseinheit darstellen würde.

Das Erkennen driftender Sensoren wurde mit einer Simulation mit Komplexbildnern in Lösung überprüft. Abgesehen von Morin und Phenylfluoron wurde eine Drift bei allen Komplexbildnern eindeutig mittels F - Test festgestellt. Einige falsch gemessene Proben unter richtigen Proben wurden durch Anwendung des F - Tests und des Hilfskriteriums "leverage" erkannt. Die Unterscheidung zwischen der Fehlerquelle "driftender Sensor" (Komplexbildner) und dem Fall "falsch gemessene Proben" gelang, indem ein F - Test für die Meßdaten der Komplexbildner und ein F -

Test für die Meßdaten der Proben durchgeführt wurde. Ergaben sich für keinen Komplexbildner signifikante Abweichungen der Standardabweichung vom zu erwartenden Wert, so konnte eine Drift ausgeschlossen werden. Die gefundenen Ausreißer wurden als falsche Proben bei einem ansonsten funktionierenden Array erkannt.

Um das Array auf die maximal notwendige Zahl an Komplexbildnern zu beschränken bzw., um sich nachteilig auswirkende Komplexbildner zu entfernen, sollte die optimale Kombination von Komplexbildnern gefunden werden. Es wurden zwei Optimierungsverfahren angewandt.

Die Optimierung durch relative Maximierung der Empfindlichkeit beruht ausschließlich auf univariaten Informationen. Sie zeigte, daß univariate Informationen nicht zur endgültigen Auswahl der Komplexbildner bzw. Sensoren für ein Array herangezogen werden dürfen. Dagegen erbrachte die Optimierung nach minimalem Fehler, die multivariate Informationen verwendete, ein Optimum nach Entfernen von Morin, Phenylfluoron und je einem Meßwert von Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon und Calcein. Diese Komplexbildner bzw. Meßwerte erwiesen sich innerhalb der vorgegebenen Kombination von sieben Komplexbildnern (13 Meßwerte) als unwichtig.

Zur Demonstration der Übertragbarkeit des Analysenkonzepts auf echte Sensorarrays wurden die zur Simulation verwendeten Komplexbildner Phenylfluoron, Calcein, Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon, Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon, 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol und 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin als Aminoderivate synthetisiert und über die Thioharnstoffreaktion auf Glas immobilisiert. Zusätzlich wurde kommerziell erhältliches Calcein über die Friedels-Craft-Alkylierung auf Glas immobilisiert, ebenso wie Morin.

Die mit den hydrophoben Komplexbildnern Amino-Phenylfluoron, bis-(N-Methyl)-Aminomethyl-Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon und 5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin hergestellten Sensoren zeigten keine spektrale Änderung in Gegenwart der entsprechenden Metallionen. Die eingangs formulierten Anforderungen an Komplexbildner zur Herstellung von Sensoren müssen deshalb durch die Eigenschaft Hydrophilie ergänzt werden.

Mit dem 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol - Sensor war die Bestimmung von Aluminium reproduzierbar, aber nicht vollständig reversibel. Dies könnte durch eine zu große Komplexbildungskonstante begründet sein, derzufolge Aluminium aus der wässrigen Lösung auf die Sensoroberfläche "extrahiert" wird.

Der Morin-Sensor (Aluminium), der Calcein-Sensor (Zink) und der bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor (Zink) waren reversibel. Die Bestimmungen von Aluminium und Zink waren reproduzierbar. Der Meßfehler der Sensoren betrug ca. 3%. Die Bestimmungsgrenzen lagen für den Morin-Sensor (Aluminium) und den Calcein-Sensor (Zink) unterhalb der derzeitigen Grenzwerte (lt. Trinkwasserverordnung) von Aluminium (10 mg/l) und Zink (5 mg/l). Für den bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon-Sensor (Zink) lag sie beim Grenzwert. Die Bestimmungsgrenzen waren durchweg höher als für die entsprechenden Aluminium - und Zink - Nachweise in Lösung. Dies ist auf den durch Streuung und Reflexion bedingten erhöhten Untergrund sowie möglicherweise veränderte Komplexbildungskonstanten nach Immobilisieren der Komplexbildner zurückzuführen.

Die Ansprechzeiten (5 - 10 Minuten) reichen für die meisten Anwendungen, wie z.B. Überwachung von Abwässern, aus.

Das Verhalten der Sensoren gegen interferierende Substanzen war teilweise geändert im Vergleich zu den Komplexbildnern in Lösung. Der Morin-Sensor sprach im Gegensatz zu gelöstem Morin nicht auf Kupfer oder Zink an. Er reagierte auf Chrom bereits bei kleinerem Überschuß als in Lösung.

Der Calcein - Sensor zeigte bei Anwesenheit von Aluminium zwar keine Veränderung des Fluoreszenzspektrums, war aber nach der Messung von Aluminium enthaltenden Lösungen "blockiert", d.h. er zeigte keine Reaktion mehr auf Zink. Kupfer interferierte die Zink-Bestimmung mit dem Calcein-Sensor stark. Nach Austauschen der Kupfer enthaltenden Lösung gegen eine Pufferlösung stieg die Fluoreszenz wieder an, der Blindwert wurde jedoch selbst nach einer Stunde nicht wieder erreicht. Das Verhalten kann in einer zu großen Komplexbildungskonstanten begründet sein.

Der bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon - Sensor zeigte die gleichen Interferenzen wie Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon in Lösung.

Die Zeit bis zur ersten meßbaren Drift der Sensoren betrug maximal drei Tage (Calcein), 6 Stunden (bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon) bzw. 10 Stunden (Morin). Die Calcein- und Morin- Sensoren konnten nach einer erneuten Kalibration wieder eingesetzt werden. Die geringe Standzeit kann zum Teil mit der chemischen Beständigkeit dieser Komplexbildner korreliert werden. Für praktische Anwendungen, insbesondere für ein Sensorarray, reichen die beobachteten Stabilitäten nicht aus, da der Aufwand einer Neukalibrierung eines Sensorarrays zu groß wäre. Als wichtiges zusätzliches Auswahlkriterium für Kom-

plexbildner zur Herstellung von Sensoren ergibt sich somit die chemische Beständigkeit der Komplexbildner.

Es wurde ein Sensorarray aus einem Morin-Sensor (Aluminium), einem bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon-Sensor (Zink) und einem Fluorescein-Sensor (pH) zusammengestellt. Mit diesem Array konnten Aluminium und Zink in Gegenwart von Chrom bei verschiedenen pH Werten quantifiziert werden. Die Ausreißeranalyse erkannte die nicht modellierbare Chrominterferenz und die nichtlineare pH Abhängigkeit des Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon-Sensors. Nach Entfernen dieser Proben wurden Aluminium mit 8% Fehler und Zink mit 10% Fehler bestimmt.

6. Anhang  
6.1 Tabellen  
Tab. A1 F - Test für Standardabweichungen

F-Tabelle (1) ( $P = 95\%$ )

$f_2 \backslash f_1$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	$\infty$
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5	241,9	243,9	245,9	248,0	249,1	250,1	251,1	252,2	253,3	254,3
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38	19,40	19,41	19,43	19,45	19,45	19,46	19,47	19,48	19,49	19,50
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81	8,79	8,74	8,70	8,66	8,64	8,62	8,59	8,57	8,55	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,91	5,86	5,80	5,77	5,75	5,72	5,69	5,66	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,68	4,62	4,56	4,53	4,50	4,46	4,43	4,40	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,00	3,94	3,87	3,84	3,81	3,77	3,74	3,70	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,57	3,51	3,44	3,41	3,38	3,34	3,30	3,27	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,28	3,22	3,15	3,12	3,08	3,04	3,01	2,97	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,07	3,01	2,94	2,90	2,86	2,83	2,79	2,75	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,91	2,85	2,77	2,74	2,70	2,66	2,62	2,58	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,79	2,72	2,65	2,61	2,57	2,53	2,49	2,45	2,40
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,69	2,62	2,54	2,51	2,47	2,43	2,38	2,34	2,30
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,60	2,53	2,46	2,42	2,38	2,34	2,30	2,25	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,53	2,46	2,39	2,35	2,31	2,27	2,22	2,18	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,48	2,40	2,33	2,29	2,25	2,20	2,16	2,11	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,42	2,35	2,28	2,24	2,19	2,15	2,11	2,06	2,01
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,38	2,31	2,23	2,19	2,15	2,10	2,06	2,01	1,96
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,34	2,27	2,19	2,15	2,11	2,06	2,02	1,97	1,92
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,31	2,23	2,16	2,11	2,07	2,03	1,98	1,93	1,88
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,20	2,12	2,08	2,04	1,99	1,95	1,90	1,84
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,25	2,18	2,10	2,05	2,01	1,96	1,92	1,87	1,81
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,23	2,15	2,07	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,78
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,20	2,13	2,05	2,01	1,96	1,91	1,86	1,81	1,76
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,18	2,11	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,79	1,73
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28	2,24	2,16	2,09	2,01	1,96	1,92	1,87	1,82	1,77	1,71
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,15	2,07	1,99	1,95	1,90	1,85	1,80	1,75	1,69
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,20	2,13	2,06	1,97	1,93	1,88	1,84	1,79	1,73	1,67
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,12	2,04	1,96	1,91	1,87	1,82	1,77	1,71	1,65
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,10	2,03	1,94	1,90	1,85	1,81	1,75	1,70	1,64
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,09	2,01	1,93	1,89	1,84	1,79	1,74	1,68	1,62
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,00	1,92	1,84	1,79	1,74	1,69	1,64	1,58	1,51
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,92	1,84	1,75	1,70	1,65	1,59	1,53	1,47	1,39
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96	1,91	1,83	1,75	1,66	1,61	1,55	1,50	1,43	1,35	1,25
$\infty$	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88	1,83	1,75	1,67	1,57	1,52	1,46	1,39	1,32	1,22	1,00

Tab. A2 Fluoreszenzintensitäten des simulierten Arrays zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer

Nr.	Calcein (Anregung/Emission)					
	472/500 1 min	472/500 5 min	488/508 1min	488/508 5 min	498/516 1 min	498/516 5 min
1	56.00	71.36	133.82	129.27	149.18	117.44
2	64.19	67.26	197.31	196.28	217.79	213.69
3	58.04	67.26	161.47	156.35	177.85	156.35
4	68.28	76.48	187.07	179.90	191.16	170.68
5	104.12	110.27	263.87	253.63	231.69	198.33
6	124.60	128.70	283.32	276.16	207.55	197.31
7	58.04	69.31	126.65	121.53	133.83	108.22
8	64.19	78.52	156.35	147.13	157.37	125.63
9	71.36	86.72	181.95	168.64	174.78	140.99
10	102.08	112.32	251.58	238.27	199.36	182.97
11	122.56	127.68	273.08	264.89	198.33	186.04
12	56.00	56.00	166.59	163.52	179.90	176.83
13	89.79	90.81	236.22	233.15	194.24	192.19
14	78.52	96.96	116.41	82.62	74.43	38.59
15	84.67	103.10	134.84	93.88	87.74	45.76
16	38.59	43.71	100.03	93.88	115.39	95.93
17	52.92	54.97	139.96	129.72	138.94	118.46
18	79.55	80.57	196.28	184.00	156.35	144.06
19	92.86	93.88	208.57	200.38	149.18	142.01
20	46.78	58.04	114.36	105.15	113.34	86.72
21	53.95	62.14	133.82	119.48	124.60	99.00
22	80.57	83.64	190.14	175.80	149.18	131.77
23	93.88	96.96	207.55	196.28	149.18	135.87
24	48.83	48.83	139.96	136.89	148.16	142.02

Tab. A2, Fortsetzung

Nr.	Morin	SATCH 380/450	SATCH 380/470	Azo
1	7.10	10.30	7.26	5.98
2	0.00	0.00	3.39	3.84
3	4.09	5.50	5.21	4.83
4	4.16	5.77	6.04	5.95
5	4.22	5.95	12.86	14.59
6	4.09	6.72	19.90	23.23
7	7.48	10.68	7.23	6.08
8	7.55	10.75	7.87	7.10
9	7.68	10.36	8.96	8.25
10	6.52	10.24	14.20	15.36
11	6.78	11.07	22.20	25.02
12	0.68	0.70	3.20	3.64
13	0.80	1.02	10.11	12.28
14	27.84	50.88	2.36	2.68
15	27.84	51.39	3.52	4.03
16	32.00	5.56	4.48	3.87
17	3.45	5.63	6.04	5.95
18	3.39	5.88	12.99	14.52
19	3.58	6.46	19.64	23.36
20	5.76	10.75	7.61	6.33
21	5.88	10.62	8.89	8.12
22	6.08	11.62	15.29	16.44
23	6.46	11.71	22.72	25.53
24	0.60	0.76	3.26	3.64

SATCH: Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon

Azo: 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

Tab. A3 Ergebnisse des simulierten Arrays zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer

Nr.	Kupfer mg/l	1. Kalibration mg/l	2. Kalibration mg/l
1	0.000	0.0069	0.010
2	0.000	0.0044	0.005
3	0.003	0.0067	0.008
4	0.003	0.0030	0.003
5	0.003	-0.0099	-0.004
6	0.003	0.0076	0.011
7	0.003	0.0152	0.014
8	0.003	0.0050	0.005
9	0.003	-0.0020	-0.001
10	0.003	0.0009	-0.003
11	0.003	0.0094	0.007
12	0.016	0.0195	0.018
13	0.016	0.0163	0.018
14	0.016	0.0186	-0.068
15	0.016	0.0133	-0.071
16	0.032	0.0328	0.036
17	0.032	0.0271	0.027
18	0.032	0.0272	0.028
19	0.032	0.0358	0.039
20	0.032	0.0264	0.028
21	0.032	0.0258	0.025
22	0.032	0.0270	0.021
23	0.032	0.0324	0.031
24	0.032	0.0297	0.031

Tab. A3, Fortsetzung

Nr.	Aluminium mg/l	1. Kalibration mg/l	2. Kalibration mg/l
1	0.032	0.032	0.032
2	0.000	-.007	-0.005
3	0.016	0.014	0.016
4	0.016	0.016	0.016
5	0.016	0.016	0.016
6	0.016	0.022	0.018
7	0.032	0.036	0.034
8	0.032	0.034	0.034
9	0.032	0.033	0.033
10	0.032	0.031	0.029
11	0.032	0.031	0.031
12	0.000	-.001	-0.001
13	0.000	0.005	0.000
14	0.161	0.161	0.149
15	0.161	0.160	0.150
16	0.016	0.017	0.015
17	0.016	0.017	0.016
18	0.016	0.017	0.015
19	0.016	0.017	0.017
20	0.032	0.031	0.031
21	0.032	0.030	0.030
22	0.032	0.029	0.031
23	0.032	0.026	0.032
24	0.000	0.003	0.000

Tab. A3, Fortsetzung

Nr.	Zink mg/l	1. Kalibration mg/l	2. Kalibration mg/l
1	0.000	-.022	-0.012
2	0.065	0.043	0.049
3	0.032	-.000	0.003
4	0.065	0.059	0.049
5	0.323	0.308	0.342
6	0.645	0.629	0.655
7	0.000	0.023	-0.002
8	0.032	0.034	0.021
9	0.065	0.064	0.059
10	0.323	0.372	0.337
11	0.645	0.649	0.635
12	0.065	0.055	0.040
13	0.323	0.355	0.364
14	0.032	0.027	-0.608
15	0.065	0.053	-0.568
16	0.006	-.011	0.004
17	0.065	0.079	0.072
18	0.323	0.358	0.362
19	0.645	0.589	0.621
20	0.032	0.038	0.044
21	0.065	0.103	0.093
22	0.323	0.382	0.348
23	0.645	0.607	0.611
24	0.065	0.054	0.057

Tab. A4 Fluoreszenzintensitäten des erweiterten Arrays

Nr.	Calcein 472/500 1 min.	Calcein 472/500 5 min.	Calcein 488/508 1 min.	Calcein 488/508 5 min.	Calcein 498/516 1 min.	Calcein 498/516 5 min.
25	89,60	95,74	198,14	198,14	232,96	224,76
26	95,74	99,84	212,48	210,43	232,96	220,67
27	99,84	114,17	200,19	206,33	222,72	202,24
28	99,84	118,27	210,43	214,52	220,67	204,28
29	85,50	114,17	157,18	165,37	155,13	134,65
30	107,0	134,64	211,45	215,55	207,36	181,76
31	102,91	133,63	196,06	204,28	201,21	172,54
32	104,96	105,98	231,93	228,86	243,20	239,10
33	94,72	109,05	198,14	198,14	197,12	181,76
34	97,79	122,36	192,00	198,14	182,78	160,25
35	94,72	110,08	190,97	195,07	208,38	190,97
36	77,31	88,57	141,82	143,87	148,99	131,58
37	104,96	119,29	219,64	222,72	235,00	217,60
38	87,55	87,55	188,92	187,90	227,84	222,72
39	96,96	129,72	197,31	207,55	205,50	176,83
40	80,57	101,05	160,44	163,52	153,28	134,84
41	85,69	120,51	158,40	166,79	140,99	116,41
42	96,88	137,92	164,54	180,92	150,20	124,60
43	158,40	221,88	227,00	182,97	144,06	85,69
44	225,98	279,23	410,30	329,40	283,32	187,07
45	178,88	250,56	234,17	182,97	139,96	82,62
46	127,68	166,59	277,18	273,08	248,51	211,64
47	142,01	215,74	182,97	158,40	107,20	72,38
48	185,02	259,77	245,44	195,26	149,18	88,76
49	103,71	102,08	236,22	233,15	259,77	256,70
50	150,20	152,25	359,10	355,00	326,33	322,24
51	199,36	197,31	461,50	459,45	381,63	375,48
52	99,52	143,55	135,36	115,90	84,16	54,46
53	86,20	82,11	196,80	192,70	169,15	165,05
54	64,70	93,87	93,37	82,11	60,60	40,12
55	118,97	159,93	189,63	152,76	124,09	78,01
56	32,44	32,44	59,07	58,04	59,58	58,56
57	95,74	110,08	218,60	220,67	257,53	243,20
58	189,12	207,55	342,72	336,57	324,28	303,80
59	137,92	139,96	430,78	430,78	531,13	529,08
60	233,15	256,70	201,40	121,53	93,88	54,97
61	312,00	334,52	414,40	271,04	240,32	133,82
62	234,17	236,22	596,67	590,52	520,89	508,60
63	115,39	148,67	147,64	163,52	97,47	92,68
64	98,49	101,56	173,24	175,29	171,20	172,22
65	157,88	255,47	155,84	137,40	72,89	57,53
66	237,76	304,32	294,08	235,71	161,98	101,56
67	144,57	150,72	306,36	308,41	261,31	261,31

Tab. A4, Fortsetzung

Nr.	PTF	Morin	SATCH 380/450	SATCH 380/470	TITCH	HQS	Azo
25	17,72	2,24	6,43	10,46	12,57	1,92	3,52
26	16,32	1,98	7,45	11,68	6,49	2,94	3,96
27	15,55	4,12	11,16	14,04	7,52	3,68	13,18
28	16,06	4,03	11,61	14,56	7,84	4,51	13,18
29	13,88	4,16	16,16	17,44	6,04	5,76	22,27
30	15,80	4,51	16,67	18,14	8,16	6,72	23,16
31	14,27	4,67	16,03	17,56	6,81	5,82	23,55
32	19,00	2,20	7,84	11,87	10,59	4,09	3,84
33	16,57	4,51	11,87	14,56	6,88	5,85	13,05
34	12,73	4,35	17,63	18,52	7,39	7,61	22,65
35	15,29	4,12	10,75	14,27	5,24	3,48	11,00
36	15,16	4,38	10,17	11,20	5,12	3,84	10,49
37	16,70	3,74	12,92	14,27	9,15	4,38	11,52
38	16,57	0,70	5,24	9,72	6,78	1,24	0,89
39	16,19	4,92	17,72	14,78	8,38	5,59	28,35
40	28,48	4,44	16,96	14,78	9,02	6,80	20,54
41	14,52	4,54	29,76	20,54	9,02	11,00	41,15
42	16,32	4,70	26,56	17,72	7,10	8,96	45,50
43	14,01	5,95	84,54	40,51	14,40	37,73	157,37
44	30,01	7,20	81,98	47,16	72,96	53,31	143,04
45	12,35	6,65	85,05	39,48	14,08	38,34	170,68
46	31,04	5,47	23,87	19,52	20,99	13,63	35,26
47	12,73	6,97	86,08	39,48	7,80	35,89	163,26
48	15,16	6,46	80,83	36,80	13,37	37,52	172,73
49	17,85	0,44	5,05	9,15	17,34	4,60	1,12
50	16,96	1,34	9,79	13,50	32,57	15,42	2,20
51	21,05	1,34	13,76	17,08	59,58	26,62	1,21
52	12,03	7,07	64,80	31,52	10,91	30,49	134,17
53	17,66	0,57	7,45	11,29	18,84	11,42	0,80
54	12,03	6,17	61,98	29,98	10,52	33,95	102,43
55	21,69	6,27	64,80	32,28	29,08	34,46	118,81
56	14,72	0,28	4,64	8,99	8,48	0,89	0,96
57	32,96	3,45	7,04	10,81	6,78	2,52	6,11
58	37,31	1,60	34,88	30,52	18,88	6,27	126,14
59	75,20	0,92	9,66	21,31	65,98	6,59	11,20
60	23,23	2,24	82,36	44,99	13,63	23,04	352,96
61	24,25	2,40	76,22	42,43	90,30	41,98	346,81
62	73,15	2,80	13,50	21,69	104,12	24,57	20,92
63	23,74	4,92	25,34	13,82	15,36	4,35	18,43
64	24,25	1,47	6,91	7,42	22,52	3,58	3,96
65	22,72	6,46	76,80	32,25	8,32	14,65	74,24
66	21,95	6,36	81,92	37,37	40,19	24,57	76,28
67	24,00	1,98	12,80	12,80	41,21	12,54	2,52

PTF: Phenylfluoron

SATCH: Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon

TITCH: Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon

HQS: 8-Hydroxy-5-Sulfonsäure-Chinolin

Azo: 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

Tab. A5 Ergebnisse des erweiterten Arrays

Nr.	Aluminium mg/l	1. Kalibration mg/l	2. Kalibration mg/l
25	0.01	-.034	0.016
26	0.01	-.016	0.006
27	0.01	0.024	0.051
28	0.01	0.031	0.046
29	0.10	0.139	0.098
30	0.10	0.116	0.100
31	0.10	0.112	0.097
32	0.01	-.018	0.009
33	0.01	0.045	0.048
34	0.10	0.131	0.102
35	0.01	0.029	0.044
36	0.01	0.047	0.023
37	0.01	0.026	0.054
38	0.00	-.026	0.007
39	0.10	0.095	0.105
40	0.10	0.133	0.117
41	0.20	0.267	0.235
42	0.20	0.245	0.198
43	1.00	1.001	0.993
44	1.00	0.993	1.023
45	1.00	1.053	1.016
46	0.20	0.184	0.194
47	1.00	1.002	1.007
48	1.00	1.030	0.978
49	0.00	-.039	-.003
50	0.00	-.016	-.006
51	0.00	0.035	0.008
52	0.80	0.761	0.799
53	0.00	0.061	-.006
54	0.80	0.686	0.751
55	0.80	0.761	0.787
56	0.00	0.072	-.025

Tab. A5, Fortsetzung

Nr.	Zink mg/l	1. Kalibration mg/l	2. Kalibration mg/l
25	0.01	0.077	0.059
26	0.05	0.027	0.005
27	0.01	0.021	-.000
28	0.05	0.040	0.024
29	0.01	0.022	0.050
30	0.05	0.054	0.052
31	0.01	0.022	0.021
32	0.10	0.086	0.068
33	0.10	0.044	0.044
34	0.10	0.065	0.072
35	0.01	-.001	-.016
36	0.00	-.003	0.034
37	0.05	0.053	0.028
38	0.01	0.006	-.015
39	0.00	0.030	0.023
40	0.10	0.053	0.100
41	0.10	0.086	0.105
42	0.00	0.024	0.557
43	0.40	0.189	0.126
44	1.00	1.061	1.060
45	0.10	0.147	0.103
46	0.24	0.238	0.247
47	0.00	0.074	0.005
48	0.10	0.121	0.093
49	0.10	0.173	0.160
50	0.41	0.488	0.476
51	1.00	0.934	0.970
52	0.10	0.132	0.087
53	0.40	0.287	0.361
54	0.20	0.201	0.151
55	0.40	0.397	0.396
56	0.00	0.061	0.182

Tab. A5, Fortsetzung

Nr.	Kupfer mg/l	1. Kalibration mg/l	2. Kalibration mg/l
25	0.00	0.023	0.016
26	0.01	0.012	0.003
27	0.00	0.007	0.007
28	0.01	0.006	0.007
29	0.05	0.054	0.044
30	0.01	0.008	0.011
31	0.00	0.013	0.014
32	0.01	0.001	-.001
33	0.05	0.021	0.020
34	0.05	0.039	0.032
35	0.01	0.014	0.011
36	0.05	0.061	0.051
37	0.00	-.001	0.000
38	0.01	0.025	0.009
39	0.00	0.010	0.013
40	0.01	0.029	0.035
41	0.01	0.070	0.058
42	0.05	0.038	0.036
43	0.05	0.039	0.037
44	0.00	0.035	0.076
45	0.01	0.020	0.025
46	0.01	-.043	-.010
47	0.05	0.043	0.039
48	0.01	-.003	0.010
49	0.00	0.021	0.012
50	0.01	-.007	0.002
51	0.01	-.007	0.021
52	0.10	0.107	0.088
53	0.10	0.101	0.079
54	0.20	0.167	0.129
55	0.10	0.101	0.098
56	0.20	0.174	0.129

Tab. A6 a: Zusammensetzung der Testproben

Nr.	Aluminium mg/l	Zink mg/l	Kupfer mg/l	Chrom mg/l
F1	0.01	0.01	0.00	0.00
F2	0.01	0.05	0.01	0.00
F3	0.10	0.01	0.05	0.00
F4	0.05	0.01	0.01	0.00
F5	0.05	0.01	0.00	3.00
1	0.10	0.05	0.01	0.00
2	0.10	0.01	0.00	0.00
3	0.01	0.10	0.01	0.00
4	0.05	0.10	0.05	0.00
5	0.10	0.10	0.05	0.00
6	0.05	0.00	0.05	0.00
7	0.05	0.05	0.00	0.00
8	0.00	0.01	0.01	0.00
9	0.10	0.00	0.00	0.00
10	1.00	0.10	0.01	0.00
11	0.20	0.24	0.01	1.00
12	1.00	0.10	0.01	0.10
13	0.00	0.10	0.00	0.00
14	0.00	0.40	0.10	0.00
15	0.80	0.40	0.10	0.10

Tab. A6 b: Fluoreszenzintensitäten der Testproben

Nr.	Calcein					
	472/500 1 min.	472/500 5 min.	488/508 1 min.	488/508 5 min.	498/516 1 min.	498/516 5 min.
F1	33.21	32.44	58.56	54.46	52.92	47.55
F2	22.46	21.18	38.33	35.00	32.44	29.37
F3	2.40	2.43	3.00	3.00	2.33	2.24
F4	24.57	27.13	37.12	37.37	31.23	27.90
F5	87.55	87.55	188.92	187.90	227.94	222.72
1	107.00	134.65	211.45	215.55	207.36	181.76
2	102.91	133.63	196.09	204.28	201.21	172.54
3	104.96	105.98	231.93	228.86	243.20	239.10
4	94.72	109.05	198.14	198.14	197.12	181.76
5	97.79	122.36	192.00	198.14	182.78	160.25
6	77.31	88.57	141.82	143.87	148.99	131.58
7	104.96	119.29	219.64	222.72	235.00	217.60
8	95.74	110.08	218.60	220.67	257.53	243.20
9	96.96	129.72	197.31	207.55	205.50	176.83
10	178.88	250.56	234.17	182.97	139.96	82.62
11	127.68	166.59	277.18	273.08	248.51	211.64
12	185.02	259.77	245.44	195.26	149.18	88.76
13	103.10	102.08	236.22	233.15	259.77	256.70
14	118.97	159.93	189.63	152.76	124.09	78.01

Tab. A6 b, Fortsetzung

Nr.	PTF	Morin	SATCH 380/450	SATCH 380/470	TITCH	HQS	Azo
F1	17.72	2.24	6.43	10.46	12.57	1.92	3.52
F2	16.32	1.98	7.45	11.68	6.49	2.94	3.96
F3	13.88	4.16	16.16	17.44	6.04	5.76	22.27
F4	15.29	4.12	10.75	12.27	5.24	3.84	11.00
F5	16.57	0.70	5.24	9.72	6.78	1.24	0.89
1	15.80	4.51	16.67	18.14	8.16	6.72	23.16
2	14.27	4.67	16.03	17.56	6.81	5.82	23.55
3	19.00	2.20	7.84	11.87	10.59	4.09	3.84
4	16.57	4.51	11.87	14.56	6.88	5.85	13.05
5	12.73	4.35	17.63	18.52	7.39	7.61	22.65
6	15.16	4.38	10.17	11.20	5.12	3.84	10.49
7	16.70	3.74	12.92	14.27	9.15	4.38	11.52
8	32.96	3.45	7.04	10.81	6.78	2.52	6.11
9	16.19	4.92	17.72	14.78	8.38	5.59	28.35
10	12.35	6.65	85.05	39.48	14.08	38.34	170.68
11	31.04	5.47	23.87	19.52	20.99	13.63	35.26
12	15.16	6.46	80.83	36.80	13.37	37.52	172.73
13	17.85	0.44	5.05	9.15	17.34	4.60	1.12
14	21.69	6.27	6.48	32.28	29.08	34.46	118.81

Tab. A7 Fluoreszenzintensitäten des Sensorarrays

Nr.	Morin 1 min	Morin 5 min	SATCH 380/450	SATCH 380/470	FITC
1	0.00	-1.03	0.00	0.00	248.51
2	0.00	-0.23	12.92	9.25	254.65
3	2.05	1.02	22.78	19.89	244.41
4	8.19	13.31	2.83	2.14	249.65
5	8.19	11.26	12.92	10.67	250.10
6	6.15	13.31	27.03	25.61	248.60
7	19.45	29.69	2.25	-0.69	251.08
8	18.53	25.70	8.50	8.53	249.00
9	11.29	15.39	19.31	17.78	250.30
10	3.10	10.27	39.94	33.41	288.59
11	6.17	13.34	10.08	7.11	254.65

SATCH: bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon -  
Sensor

Morin: Morin - Sensor

FITC: Fluorescein - Sensor

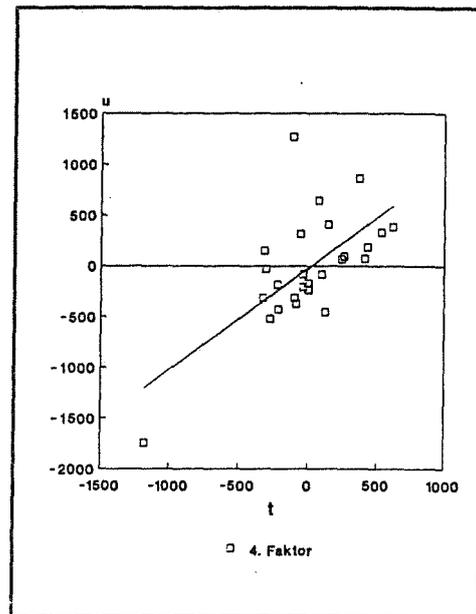
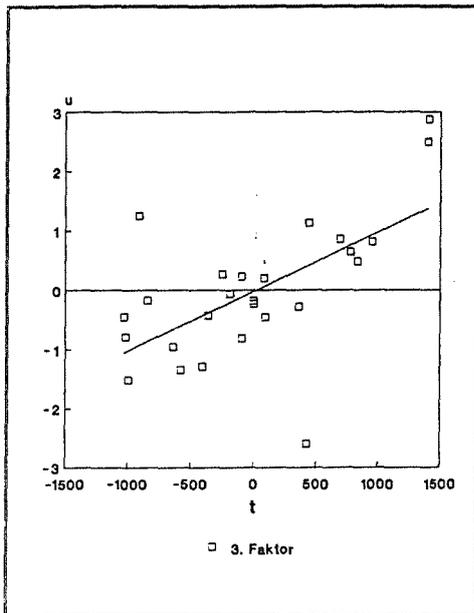
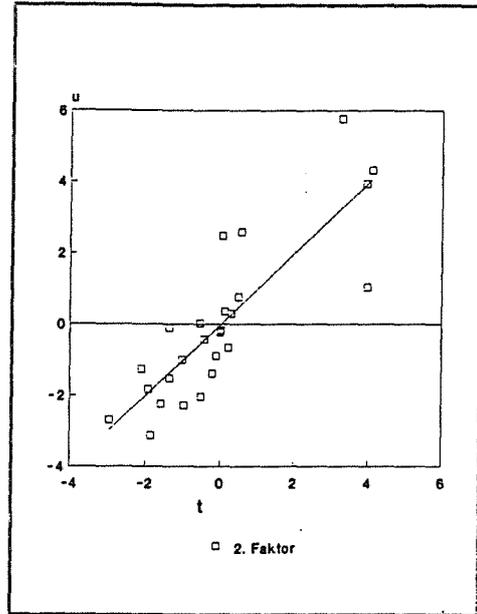
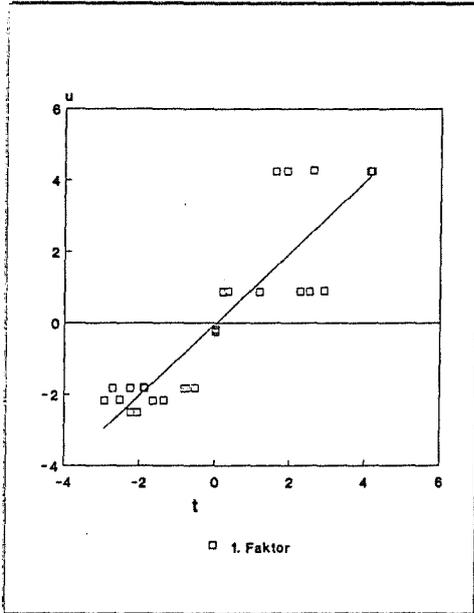
6.2 Diagramme

Abb. A1: t-u-Diagramme der vier relevanten Faktoren  
 1. Kalibrierung mit dem simulierten Array zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer

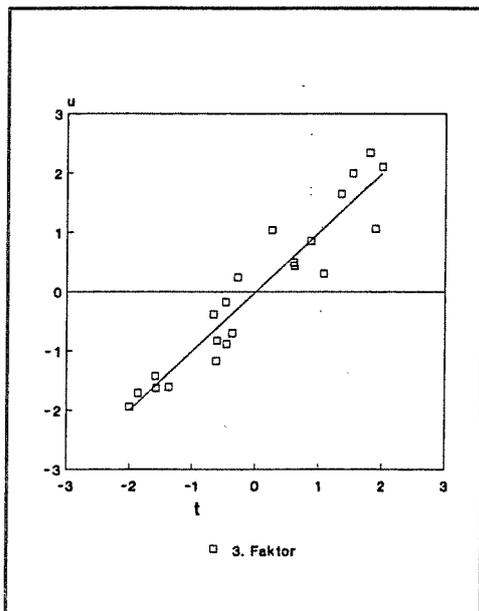
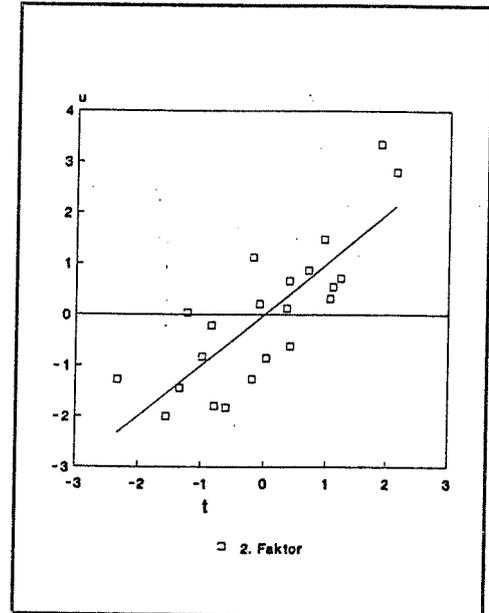
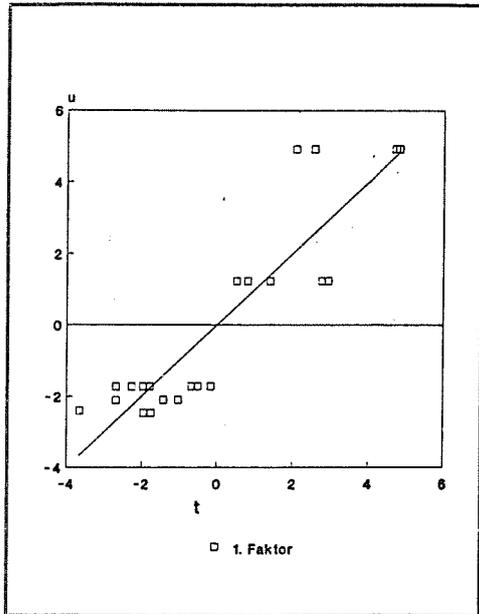
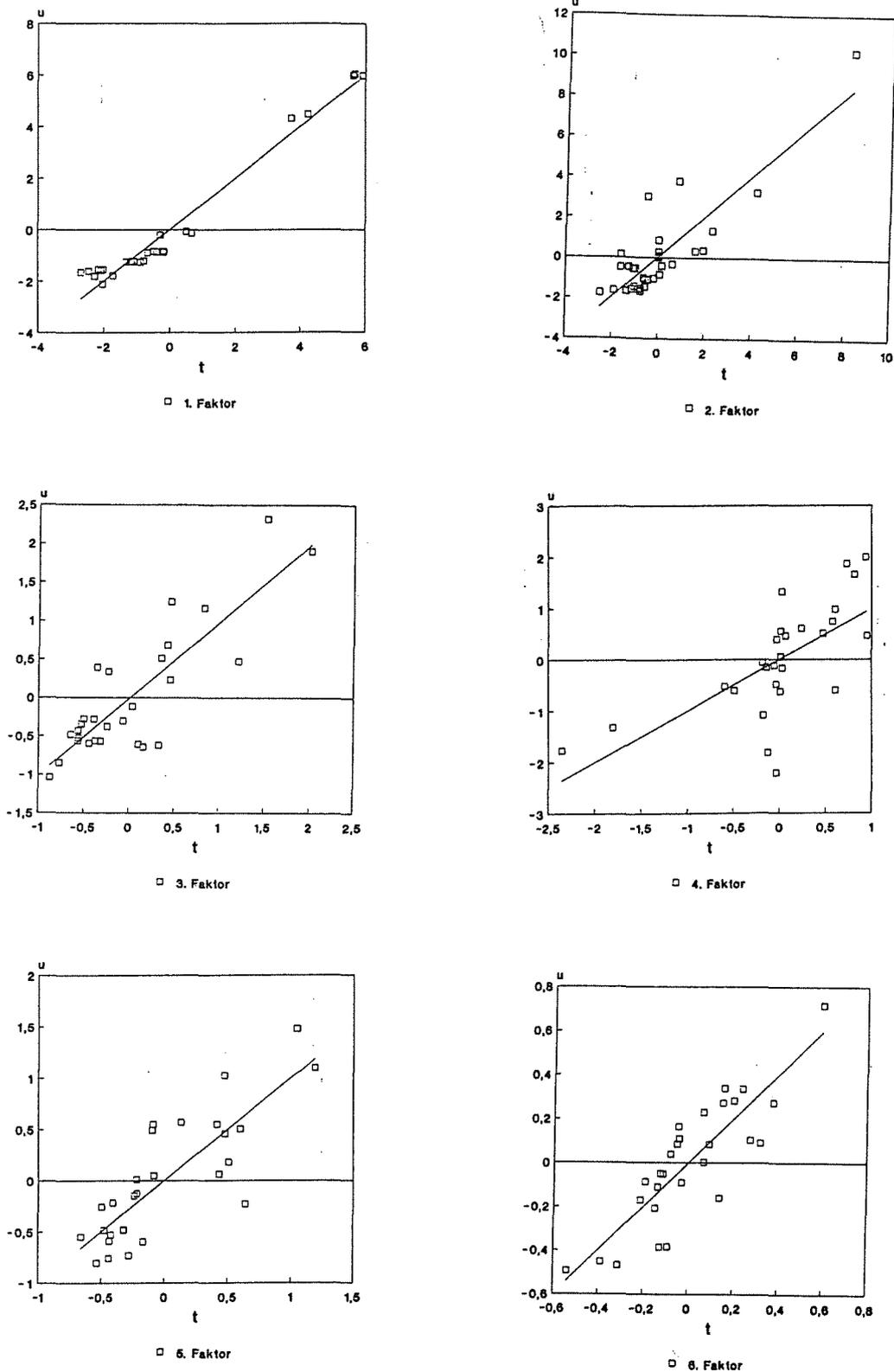
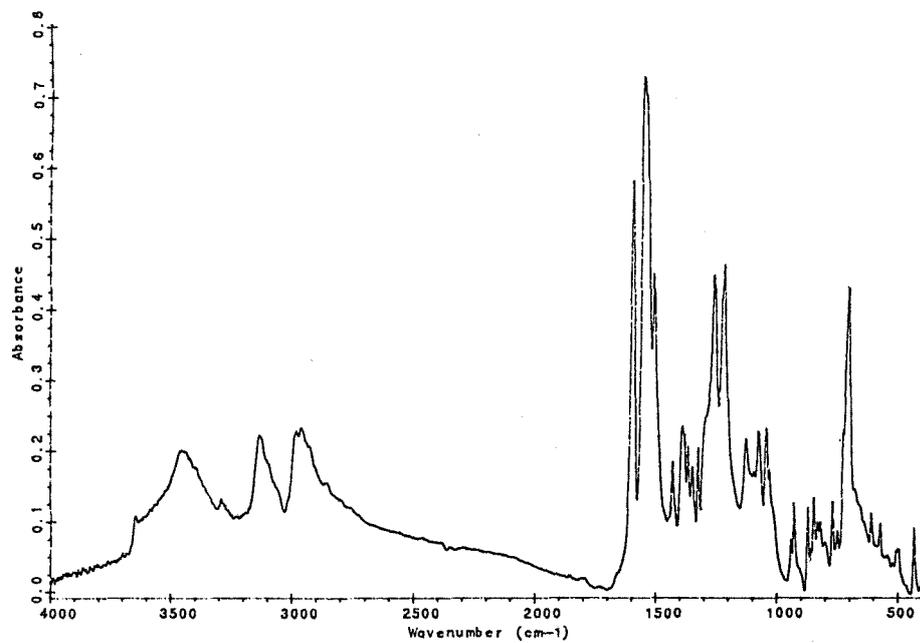


Abb. A2 t-u-Diagramme der drei relevanten Faktoren  
2. Kalibration mit dem simulierten Array zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer

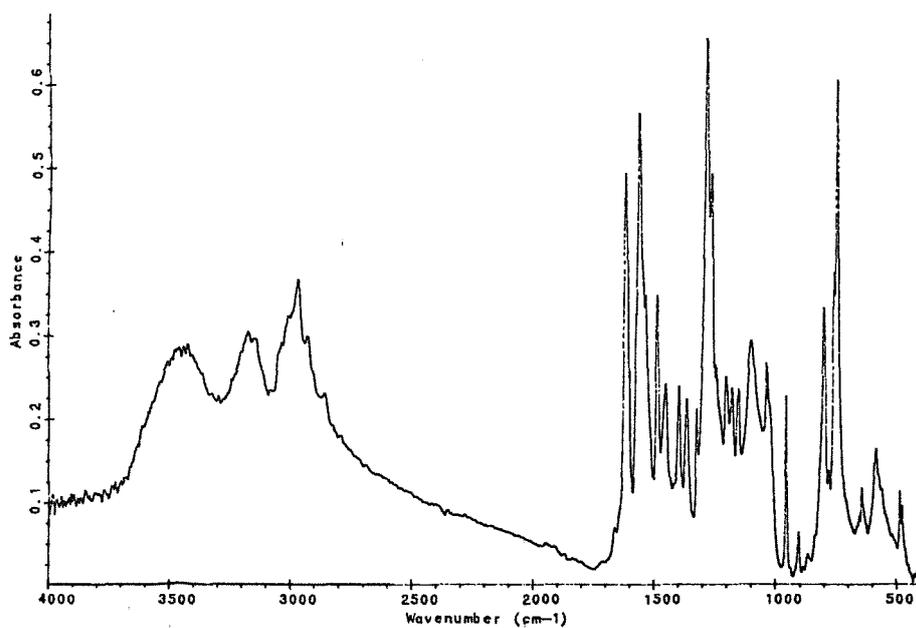


**Abb. A3: t-u-Diagramme der sechs relevanten Faktoren**  
**2. Kalibration mit dem simulierten Array zur Bestimmung von Aluminium, Zink und Kupfer in Gegenwart von Chrom**

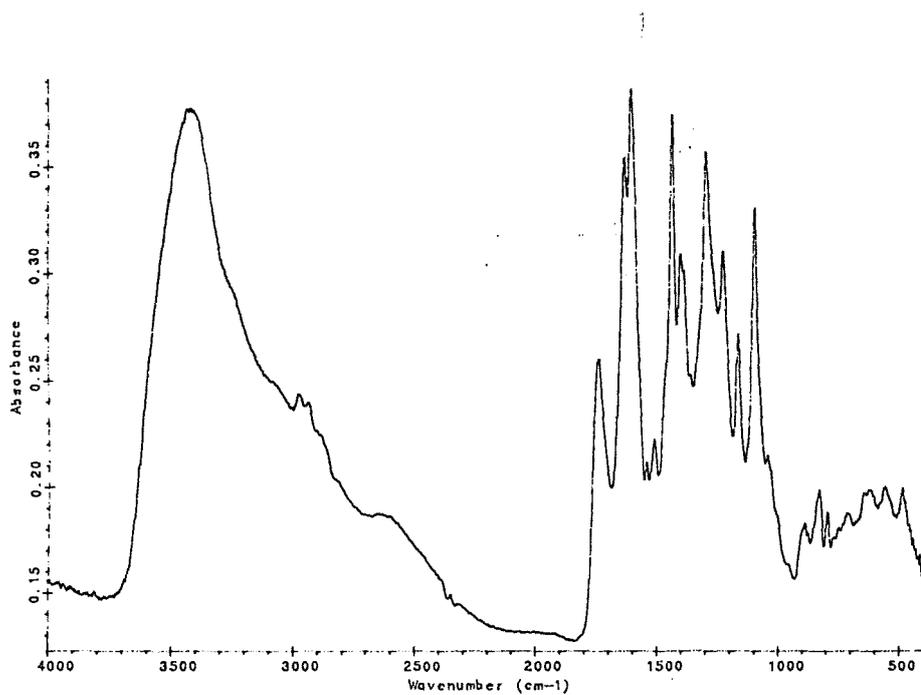
### 6.3 Spektren von synthetisierten Verbindungen



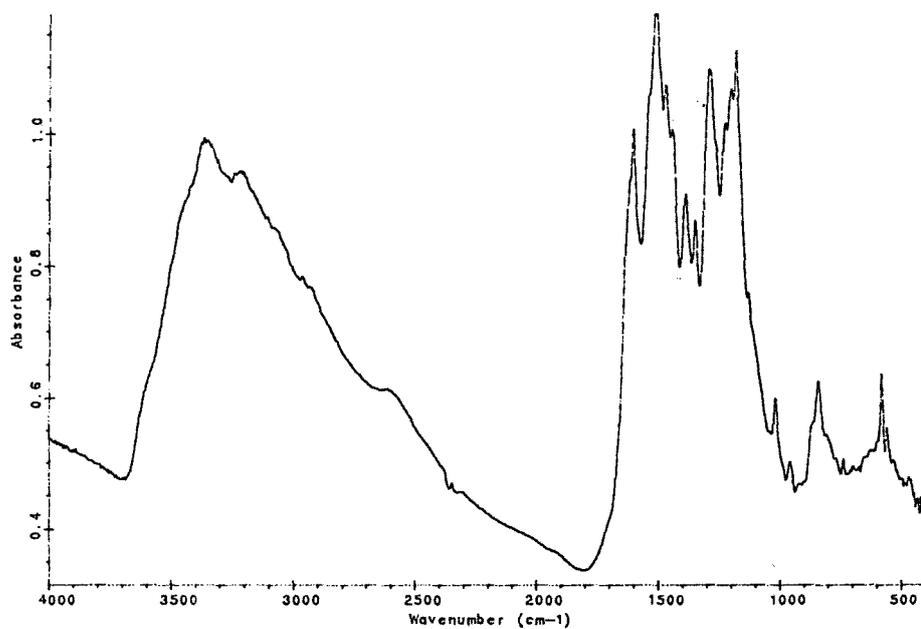
bis-(N-Methyl)-Aminomethyl-3,3'-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon



bis-(N-Methyl)-Aminomethyl-Thiophenalddehyd-Thiocarbohydrazon



Amino-Calcein



Amino-Phenylfluoron

**Chemikalienliste**

Ethanol (Roth)

Toluol (Merck)

(N-Ethylamin)-3-Propylamin-Triethoxysilan (Wacker)

Thiophosgen (Fluka)

CPG: Controlled porous glass 77 Å (Fluka)

3-Epoxy-Propyloxy-Triethoxysilan (Wacker)

Calcein (Fluka)

Morin (Fluka)

Methanol (Fluka)

Aceton (Fluka)

Fluoresceinisothiocyanat (Fluka)

**1. Synthese von Amino-Calcein**

Aminofluorescein (Fluka)

Iminodiacetylsäure (Fluka)

37%iges Formaldehyd (Merck)

**2. 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol**

3-Amino-Phenol (Fluka)

2-Amino-4-Sulfonsäure-Phenol (Fluka)

**3. Amino-Phenylfluoron**

1,4-Benzochinon (Fluka)

Acetanhydrid (Fluka)

konz. Schwefelsäure (Merck)

4-Nitro-Benzaldehyd (Fluka)

**4. 5-Amino-8-Hydroxy-Chinolin**

8-Hydroxy-5-Nitro-Chinolin (Fluka)

Natriumsulfid (Fluka)

**5. bis-(N-Methyl)-3,3'-Aminomethyl-Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon**

Salicylaldehyd (Merck)

Thiocarbohydrazid (Merck)

Tetrahydrofuran (Merck)

Methylamin (Merck)

**6. bis-(N-Methyl)-Aminomethyl-Thiophenaldehyd-Thiocarbohydrazon**

Thiophenaldehyd (Merck)

Eisessig (Merck)

Thiocarbohydrazid (Merck)

Tetrahydrofuran (Merck)

Methylamin (Merck)

## 6.4 Optimierung der Meßwertauswahl

### 6.4.1 Optimierung durch relative Maximierung der Meßwertauswahl

Array Nr.	mittlerer Fehler		
	Aluminium	Zink	Kupfer
0	0.0016	0.0174	0.0182
1	0.0014	0.0170	0.0185
2	0.0059	0.0320	0.0149
3	0.0046	0.0355	0.0102
4	0.0046	0.0462	0.0082
5	0.0055	0.0457	0.0082
6	0.0065	0.0676	0.0093
7	0.0052	0.0578	0.0086
8	0.0129	0.0761	0.0112

Nr. 0: vollständiges simuliertes Array

Nr. 1: Nr. 0 ohne Calcein 498/516 (5 min)

Nr. 2: Nr. 1 ohne Calcein 498/516 (1 min)

Nr. 3: Nr. 2 ohne Thiophenylaldehyd-Thiocarbohydrazon

Nr. 4: Nr. 3 ohne Calcein 472/500 (5 min)

Nr. 5: Nr. 4 ohne Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/450

Nr. 6: Nr. 5 ohne Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/470

Nr. 7: Nr. 6 ohne 4-Amino-2,2'-Dihydroxy-5'-Sulfonsäure-Azobenzol

Nr. 8: Nr. 7 ohne Calcein 472/500 (1 min)

### 6.4.2 Optimierung nach minimalem Fehler

Array Nr.	mittlerer Fehler		
	Aluminium	Zink	Kupfer
0	0.0016	0.0174	0.0124
1	0.0016	0.0158	0.0151
2	0.0015	0.0161	0.0149
3	0.0013	0.0157	0.0150
4	0.0013	0.0123	0.0092
5	0.0012	0.0152	0.0183

Nr. 0: vollständiges Array

Nr. 1: Nr. 0 ohne Morin

Nr. 2: Nr. 1 ohne Calcein 488/508 (1 min)

Nr. 3: Nr. 2 ohne Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/470

Nr. 4: Nr. 3 ohne Phenylfluoron

Nr. 5: Nr. 4 ohne Salicylaldehyd-Thiocarbohydrazon 380/450

### 6.5 Abkürzungsverzeichnis

<b><u>B</u>:</b>	Eichmatrix
<b>I:</b>	Zahl der Eichproben
<b>J:</b>	Zahl der Komponenten
<b>K:</b>	Zahl der Meßwerte
<b>A:</b>	optimale Zahl der Faktoren
<b><u>Y</u>:</b>	Konzentrationsmatrix für I Eichproben und J Komponenten
<b><u>F</u>:</b>	Residualmatrix der Konzentrationsdaten
<b><math>f_{i,j}</math>:</b>	residual der Probe i und Komponente j
<b><u>U</u>:</b>	Faktormatrix der Konzentrationsmatrix; $\underline{u}_a$ : Konzentrationsfaktor (Spalte)
<b><u>Q</u>:</b>	Loadingmatrix der Faktoren $\underline{u}_a$
<b><math>\underline{y}_m</math>:</b>	Vektor, der die Mittelwerte der Konzentrationen, ermittelt über die Proben, enthält
<b><u>X</u>:</b>	Meßdatenmatrix für I Eichproben und K Meßwerte
<b><u>T</u>:</b>	Faktormatrix der Meßdatenmatrix; $\underline{t}_a$ : Meßdatenfaktor (Spalte von <u>T</u> )
<b><u>P</u>:</b>	Loadingmatrix der Faktoren $\underline{t}_a$
<b><math>\underline{x}_m</math>:</b>	Vektor, der die Mittelwerte der Meßdaten, ermittelt über die Proben, enthält
<b><u>E</u>:</b>	Residualmatrix der Meßdaten
<b><math>e_{ik}</math>:</b>	Residual des Meßwertes k von Probe i
<b><u>D</u>, <u>D</u><sub>0</sub>:</b>	Regressionskoeffizienten der linearen Relation
<b><math>\mathbf{1}'</math>:</b>	Einheitsvektor (Zeilenvektor)
<b><math>V_{y,g}(a)</math>:</b>	Restvarianz der Konzentrationsdaten nach Berechnung mit a Faktoren
<b><math>I_p</math>:</b>	Zahl der Testproben
<b><math>V_{y,j}(a)</math>:</b>	Restvarianz der Konzentrationsdaten für die Komponente j
<b><math>h_i(a)</math>:</b>	leverage der Probe i für das Kalibrationsmodell mit a Faktoren
<b><math>f_{i,j}^c</math>:</b>	leverage korrigiertes Residual der Konzentration von Komponente j der Probe i
<b><math>df_{x,i}</math>:</b>	Freiheitsgrad der Standardabweichung der Meßdaten von Probe i
<b><math>df_{x,g}</math>:</b>	Freiheitsgrad der mittleren Standardabweichung der Meßdaten
<b><math>df_{y,i}</math>:</b>	Freiheitsgrad der Standardabweichung der Konzentrationsdaten
<b><math>df_{y,g}</math>:</b>	Freiheitsgrad der mittleren Standardabweichung der Konzentrationsdaten
<b><math>s_{x,i}</math>:</b>	Standardabweichung der Meßdaten von Probe i
<b><math>s_{x,g}</math>:</b>	mittlere Standardabweichung der Meßdaten
<b><math>s_{y,i}</math>:</b>	Standardabweichung der Konzentrationsdaten von Probe i
<b><math>s_{y,g}</math>:</b>	mittlere Standardabweichung der Konzentrationsdaten
<b>F:</b>	Quotient zweier zu vergleichender Standardabweichungen (quadriert)
<b>H:</b>	Empfindlichkeit eines multivariaten Verfahrens
<b>r:</b>	Korrelationskoeffizient
<b><math>s(e_k)</math>:</b>	Standardabweichung des Meßwertes k, gemittelt über alle Proben

## 7. Literaturverzeichnis

- /1/ H.M. Widmer, *Chimia* 43, (1989), 57
- /2/ M.S. Abdel-Latif, A. Suleiman, G.G. Guilbaut, *Anal. Letters* 23, (1990), 375
- /3/ G.G. Guilbaut, *Chimia* 42, (1988), 267
- /4/ Persönliche Mitteilung B. Fischer, Fa. Hewlett Packard, Böblingen
- /5/ N. Opitz, D.W. Lübbers, *Adv. Exp. Med. Biol.* 169, (1984), 907
- /6/ W. Göpel, J. Hesse, *Sensors*, J.N. Zemel (Ed.), *A Comprehensive Survey*, ed. by Verlag Chemie, Weinheim, (1989)
- /7/ S.L. Rose-Pearson, D.S. Ballantine, P.C. Jurs; *Anal. Chem.* 60, (1985), 2801
- /8/ R. Müller, E. Lange, A. Hinterstocker, *Transducers* 3, (1985), 81
- /9/ L.A. Saari, W.R. Seitz, *Analyst* 109, (1984), 655
- /10/ T. Hirschfeld, *Adv. Instrum.* 40, (1985), 305
- /11/ Milanovich et al, *Anal. Instrum.* 15, (1986), 136
- /12/ O.S. Wolfbeis, H.E. Posch, *Anal. Chim. Acta* 185, (1986), 321
- /13/ Kobayasi et al, *Appl. Optics* 20, (1981), 3279
- /14/ L.M. Trutneva, O.P. Shvoeva, S.B. Savvin, *Z. Anal. Khimii* 44, (1989), 1804
- /15/ H. Kaiser, *Z. Anal. Chem.* 260, (1972), 252
- /16/ B. Welz, *Atomabsorptionsspektroskopie*, Verlag Chemie, Weinheim, (1983)
- /17/ H.B. Boehm, M. Schneider, F. Arendt, *Z. anorg. u. allg. Chemie* 320, (1963), 43
- /18/ D.W. Bascom, R.B. Timmons, *J. Phys. Chem.* 76, (1972), 3192
- /19/ G. Kämpf, H.W. Kohlschütter, *Z. Elektrochem. Ber. Bunsenges. phys. Chem.* 62, (1958), 958
- /20/ H.B. Boehm, M. Schneider, *Z. anorg. u. allg. Chem.* 301, (1959), 326
- /21/ D. Zeller, *Dissertation*, Technische Universität Karlsruhe, (1986)
- /22/ Persönliche Mitteilung Dr. Schnabel, Schott-Werke Mainz
- /23/ S.S. Yang, R.K. Gilpin, *J. Chromatogr.* 449, (1988), 115
- /24/ Houben-Weyl E4, 838
- /25/ K.L. Cheng, K. Uenoi, T. Imamura (Ed.), *CRC Handbook of organic analytical reagents*, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, (1982)
- /26/ D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, S.N. Deming, L. Kaufman, *Chemometrics, A Textbook*, Elsevier, Amsterdam, (1988)

- /27/ H. Martens, *Multivariate Calibration*, John Wiley & Sons, New York, 1989
- /28/ J.C.B. Cooper, *Am. Stat.* 37, (1983), 141
- /29/ M. Sjoström, S. Wold, *Anal. Chim. Acta* 150, (1983), 61
- /30/ C. Jochum, B.R. Kowalski, *Anal. Chim. Acta* 151, (1983), 38
- /31/ H. Martens, *Diss.*, Technical University of Norway, Trondheim, (1985)
- /32/ *Handbuch zum Programm "Unscrambler"*, CAMO, Trondheim, Norwegen
- /33/ J.C. Miller, J.N. Miller, *Statistics for analytical chemistry*, John Wiley & Sons, New York, (1984)
- /34/ H. Martens, O. Vangen, E. Sandberg, *Prog. Nordic Symposium on Applied Statistics*, ed. by O.H.J. Christie, Stokkand Forlag Publ., Skagenkaien 12, Stavanger, Norway, (1983)
- /35/ H. Junker, G. Bergmann, *Z. Anal. Chem.* 272, (1974), 267
- /36/ H. Kaiser, *Z. Anal. Chem.* 260, (1972), 252
- /37/ Küster-Thiele, *Rechentafeln für die chemische Analytik*, de Gruyter, (1982)
- /38/ D.F. Hoelzl Wallach, D.M. Surgenor, J. Soderberg, E. Delano, *Anal. Chem.* 31, (1959), 456
- /39/ H. Sano, *Anal. Chem.* 31, (1958), 97
- /40/ *Houben-Weyl XI/1*, ed. by E. Müller, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1971, S. 147
- /41/ *Houben-Weyl XI/1*, ed. by E. Müller, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1971, S. 288
- /42/ S. Bajo, U. Souter, B. Aeschliman, *Anal. Chim. Acta* 149, (1983), 321
- /43/ H.A. Bruson, *J. Am. Soc.* 58, (1936), 1741
- /44/ *Organikum*, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, (1984), 578
- /45/ K. Takemoto, Y. Inaki, R.M. Ottenbrite (ed.), *Functional monomers and polymers*, Marcel Dekker Inc., New York and Basel
- /46/ O.S. Wolfbeis, H.E. Posch, *Anal. Chim. Acta* 185, (1986), 321
- /47/ R.S. Mullikan, W.B. Person, *Molecular complexes*, Wiley & Sons, New York, (1969)
- /48/ F. Janowski, W. Heyer, *Poröse Gläser*, VEB Deutscher Verlag f. Grundstoffind., Leipzig, (1982)
- /49/ Z. Zhujun, W.R. Seitz, *Anal. Chim. Acta* 171, (1985), 251