

KfK 5218
September 1993

Entwicklung eines optisch-chemischen Sensors zur kontinuierlichen Nitratbestimmung in Trink- und Grundwasser

R. Lumpp
Institut für Radiochemie
Projekt Schadstoffbeherrschung in der Umwelt

Kernforschungszentrum Karlsruhe

KERNFORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE

Institut für Radiochemie

Projekt Schadstoffbeherrschung in der Umwelt

KfK 5218

Entwicklung eines optisch-chemischen Sensors zur
kontinuierlichen Nitratbestimmung in Trink- und Grundwasser

Ralf Lumpp

von der Fakultät für Chemie
der Universität Karlsruhe (TH)
angenommene Dissertation

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH, Karlsruhe

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

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH
Postfach 3640, 76021 Karlsruhe

ISSN 0303-4003

Zusammenfassung

Es wurde ein optisch-chemischer Sensor zur kontinuierlichen reversiblen Nitratbestimmung in Trink- und Grundwasser entwickelt. Der Sensor basiert auf der Kombination des anionenselektiven Flüssigionentauschers $\text{Ni(II)[bathophenanthrolin]}_3^{2+}$ mit Phenolsulfonphthalein - Farbstoffen in einer Polyvinylchloridmembran.

Zunächst wurde ein spektralphotometrischer Nachweis von Nitrationen durch Flüssigextraktion entwickelt. Die Extraktionsversuche zeigten, daß die Nitratbestimmung bei konstantem pH-Wert der Meßlösung durchgeführt werden muß. Durch Auswahl geeigneter Indikatoren ist es jedoch möglich, den optischen Nitratnachweis an den pH-Wert der zu untersuchenden Proben anzupassen.

Es konnte gezeigt werden, daß die Wahl des Weichmachers einen entscheidenden Einfluß auf die Sensoreigenschaften ausübt. Durch die Synthese des Ionentauschers in 2-Nitrophenyl-octylether wurden nitratsensitive Membranen mit hohem Ionophorgehalt hergestellt. Durch den Zusatz des schwach basischen Anionentauschers Amberlite LA-2 wurde die Farbstoffkonzentration in der Membran erhöht, wodurch dünnere Sensorschichten mit kurzen Ansprechzeiten und hohen Signalamplituden resultierten.

Die Beschichtung auf rotierenden Plexiglasplättchen ermöglicht die reproduzierbare Herstellung von Membranen mit $\leq 10 \mu\text{m}$ Dicke. Die Ansprechzeit der Sensoren beträgt 7 Minuten. Die Standzeit der Sensoren bei kontinuierlicher Messung im Durchfluß wird mit 10 Tagen angegeben. Eine Neukalibrierung des Sensors im kontinuierlichen Betrieb ist nur etwa alle zwölf Stunden erforderlich. Die untere Bestimmungsgrenze des Analyseverfahrens liegt bei $0,2 \text{ mg/l Nitrat}$ ($3 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$).

Die Selektivität des Sensors steigt analog der nitratselktiven Elektrode mit abnehmender Hydratationsenergie des Meßions in der Lösung in der Reihenfolge:



Die Nitratgehalte in Trinkwässern konnten mit einem Bestimmungsfehler von 10 % ermittelt werden. Damit erfüllt die Optode die Anforderungen für den Einsatz als Detektor in einem Durchflußsystem zur kontinuierlichen Nitratbestimmung.

Der entwickelte optisch-chemische Nitratsensor zeichnet sich durch ein einfaches Herstellungsverfahren aus und kann, im Hinblick auf die spektrale Detektion und die Signalerfassung, problemlos an optochemische Komponenten (Leucht- und Photodioden) angepaßt werden. Die Verwendung des transparenten Polymers läßt eine praktisch beliebige Formgebung zu, so daß durch Beschichtung von Lichtleitern miniaturisierte Sonden realisierbar sind.

abstract

Development of an optochemical sensor for continuous reversible determination of nitrate in drinking water and ground water.

An optochemical sensor has been developed for continuous reversible determination of nitrate in drinking water and ground water. The sensor is based on the combination of the anion selective liquid ion exchanger Ni(II)[bathophenanthroline]₃²⁺ with phenolsulfonephtalein dyes in a polyvinylchloride membrane.

At first, a method of spectrophotometric detection of nitrate ions by liquid extraction was developed. It was demonstrated by the extraction experiments that nitrate determination has to be performed at a constant pH value of the solution measured. By selecting suitable indicators, however, optical nitrate detection may be adapted to the pH value of the samples to be investigated.

The plasticizer selected turned out to have a significant influence on the sensor properties. By synthesis of the ion exchanger in 2 - nitrophenyl octyl ether, nitrate sensitive membranes with a high ionophoric content were produced. Addition of the slightly basic anion exchanger Amberlite LA-2 led to an increase in the dye concentration of the membrane, as a result of which thinner sensor layers with short response times and high signal amplitudes were obtained.

Coating on rotating plexiglass plates allows reproducible production of membranes with $\leq 10 \mu\text{m}$ thickness. The response time of the sensors is 7 min. Long-term stabilities of the sensors during continuous measurement in the flow section amounts to 10 days. New calibration of the sensors in continuous operation is required every 12 hours only. The lower limit of detection of the analytical method is 0.2 mg/l nitrate ($3 \cdot 10^{-6}$ mole/l).

In analogy to the nitrate selective electrode, selectivity of the sensor increases with decreasing hydration energy of the ion measured in the solution with the order being as follows:



Determination of the nitrate content in drinking water was subjected to an error of 10%. Hence, the optode meets the requirements made on the detector when applied for continuous nitrate determination in a flow system.

The optochemical nitrate sensor developed can be fabricated easily and adapted to optochemical components (light emitting diodes, photodiodes) without any problems as far as spectral detection and signal acquisition are concerned. Using a transparent polymer, practically any shape can be obtained such that even miniature probes can be produced by the coating of fiber-optical waveguides.

3.4 Bestimmung des Nitratgehaltes in realen Proben	25
3.4.1 Probenahme	25
3.4.2 Ionenchromatographie	26
3.4.3 Messung realer Proben mit Optode und nitrat- selektiver Elektrode	26
4. Ergebnisse und Diskussion	28
4.1 Orientierende Experimente zur Auswahl geeigneter Chromoionophore	28
4.1.1 Extraktionsversuche zur Farbstoffimmobilisierung	30
4.1.2 Spektralphotometrischer reversibler Nachweis von Nitrationen durch Flüssigextraktion	32
4.1.2.1 Extraktionsversuche mit Bromkresolpurpur	32
4.1.2.2 Extraktionsversuche mit Bromphenolblau	35
4.2 Orientierende Experimente zur Auswahl der Sensor- komponenten	37
4.2.1 Auswahl der Polymermatrix	37
4.2.2 Auswahl des Weichmachers	38
4.3 Messung mit gegossenen Sensoren	40
4.4 Messung mit durch Aufschleudern hergestellten Sensoren	43
4.4.1 Ansprechzeit	43
4.4.2 Austragverhalten	46
4.4.3 Mathematische Beschreibung der Ansprech- funktion	48
4.4.4 Kalibrierung der Sensoren	52
4.4.5 Bestimmungsgrenze des Analysenverfahrens	55
4.4.6 Querempfindlichkeit	56
4.4.7 Standzeit	59
4.5 Bestimmung des Nitratgehaltes in realen Proben	60

5. Zusammenfassung und Ausblick	64
6. Literaturverzeichnis	68
7. Anhang	73
A1: Probenahmeprotokolle der untersuchten Wasserproben	71
A2: Kalibrierung, Meß- und Regressionsdaten verschiedener Sensoren	77

1. Einleitung

Die steigenden Anforderungen zur Optimierung chemischer Prozesse, bei gleichzeitiger Minimierung von Schadstoffemissionen, können nur durch die Entwicklung zuverlässiger Analysen- und Detektionssysteme gewährleistet werden.

Damit kommt der Meß- und Regeltechnik in chemischen Prozessen eine zentrale Bedeutung zu. Die Steuerung der komplexen Abläufe verlangt nach schneller, verlässlicher und kontinuierlicher Erfassung der Regelgrößen durch Meßwertaufnehmer, den sogenannten Sensoren. Physikalische Sensoren wie Temperatur-, Druckfühler und Füllstandanzeiger werden seit geraumer Zeit zur Steuerung und Kontrolle von chemischen Prozessen mit Erfolg eingesetzt.

Im Bereich der Umweltanalytik stehen, durch die Fortschritte auf apparativem Sektor und durch die stürmische Entwicklung in der Elektronik und Computertechnologie, zahlreiche leistungsfähige Analysensysteme zur Verfügung. Insbesondere die Kopplung verschiedener Analysenverfahren, z.B. der Gaschromatographie mit der Massenspektroskopie (GC-MS), in Verbindung mit moderner Signal- und Datenverarbeitung, ermöglichen die empfindliche und zuverlässige Erfassung umweltrelevanter Spezies. Damit einher gehen jedoch hoher apparativer Aufwand, sorgfältige Probenahme, sowie eine oft aufwendige Probenaufarbeitung im Labor.

Vor diesem Hintergrund ist, insbesondere auch unter ökonomischen Aspekten, die Entwicklung von kompakten, auf chemischen Sensoren basierenden Detektionssystemen erforderlich, die dezentral, d.h. vor Ort, und automatisiert die notwendigen Analysen durchführen.

Außer den "klassischen" chemischen Sensoren, den ionenselektiven Elektroden, werden heute bereits optisch-chemische Sensoren eingesetzt, z.B. zur Überwachung organischer Lösemittel in Wasser [1], zur kontinuierlichen Erfassung von Kupfer(II)-Ionen in Elektrolytbädern [2], oder pH- und Sauerstoffsensoren zur Prozeßkontrolle in Bioreaktoren [3].

Durch ihre telemetrische Eigenschaft, d.h. an unzugänglichen Stellen kontinuierlich Messungen durchführen und die Meßsignale über weite Strecken übermitteln zu können, sind faseroptische Sensoren für die Überwachung von Trink- und Grundwässern besonders geeignet. Zur Fernüberwachung der Kontamination von Grundwasser durch Phenole wurde ein faseroptischer Sensor bereits eingesetzt [4].

Neben der zunehmenden Belastung des Trink- und Grundwassers durch Pestizide, gewinnt der steigende Nitrateintrag in einem Maße an Bedeutung, mit dem die technische Entwicklung der Trinkwasseraufbereitung kaum Schritt halten kann.

Der Genuß nitratbelasteter Wässer stellt eine Gesundheitsgefährdung, besonders für Kleinkinder bis zum Alter von drei Monaten (Säuglingsblausucht) dar; ebenso wird die Bildung kanzerogener Substanzen aus entstehenden N-Nitrosoverbindungen diskutiert [5-7]. Obwohl nach Feststellungen des Bundesgesundheitsamts der frühere Grenzwert von 90 mg/l zu keiner nachweisbaren Gesundheitsschädigung der Bevölkerung geführt hat [8], und innerhalb der letzten 20 Jahre kein Fall einer Säuglingsblausucht in der Bundesrepublik Deutschland, verursacht durch Nitrat im Trinkwasser, bekannt geworden ist, wurde mit dem Inkrafttreten der Trinkwasserverordnung vom 22. Mai 1986 [9], in Übereinstimmung mit der EG-Richtlinie 80/778 [10], der Nitrat-Grenzwert in Trinkwasser auf 50 mg/l festgelegt.

Demgegenüber stehen bundesweite Schätzungen der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) [11], wonach ein bedenklicher Anteil des Wassers aus der öffentlichen Wasserversorgung nicht die Qualitätsnorm von 50 mg/l Nitrat erfüllt. Grund zur Sorge geben vor allem Einzelwasserversorgungsanlagen bzw. Brunnen, von denen in Baden-Württemberg etwa 20 % einen zum Teil weit überhöhten Nitratgehalt aufweisen (vgl. Tab 1.1).

Tab 1.1: Nitratgehalte in Wässern aus der öffentlichen Wasserversorgung einiger Bundesländer [11]

Bundesland (Jahr)	Jahresförderung Grund-, Quellwasser [hm ³]	Jahresförderung NO ₃ ⁻ > 50 mg/l		Anmerkungen
		[%]	[hm ³]	
BADEN- WÜRTTEMBERG (1983)	595,8	3,5	20,9	15000 EWV, davon ca. 20% mit NO ₃ ⁻ -Konz. >50mg/l
NORDRHEIN- WESTFALEN (1983)	550	8,4	46,2	10000 EWV, davon ca. 26% mit NO ₃ ⁻ -Konz. >50 mg/l
RHEINLAND-PFALZ (1982)	249,1	7,0	11,7	EWV versorgen 9050 Einwohner, davon ca. 11% mit NO ₃ ⁻ -Konz. >50 mg/l
SCHLESWIG- HOLSTEIN (1984)	202,9	1,0	2,0	19211 EWV, davon ca. 28,7% mit NO ₃ ⁻ -Konz. >50mg/l

EWV: Einzelwasserversorgungsanlagen

Vor dem Problem nitrathaltiger Wässer stehen vorwiegend ländliche Gemeinden mit intensiv betriebener Landwirtschaft. Die Hauptursachen des Nitratreintrags sind weitgehend bekannt:

- ungünstiger Standort der Brunnen
- nicht pflanzenbedarfsgerechte Düngung
- unsachgemäße Lagerung von Düngemitteln
- Probleme lokaler Abwasserbeseitigung.

Die langen Verweilzeiten der Schadstoffe im Untergrund führen außerdem dazu, daß heute getroffene Maßnahmen zur Vermeidung des Nitrateintrags sich nur langfristig positiv auswirken können.

Hieraus wird deutlich, daß sich ökonomische Lösungen zur kontinuierlichen und flächendeckenden Überwachung der Nitratbelastung des Trinkwassers nur durch einfache, d.h. kostengünstig herstellbare, auf chemischen Sensoren aufbauenden Detektionssystemen realisieren lassen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Entwicklung einer chemisch sensitiven Schicht als Bauselement eines faseroptischen Sensors zur kontinuierlichen reversiblen Nitratbestimmung in Trink- und Grundwasser.

Bei optisch-chemischen Sensoren besteht diese sensitive Rezeptorschicht üblicherweise aus einem in eine inerte Matrix immobilisierten Farbstoff, der bei Wechselwirkung mit dem Analyten reversibel seine optischen Eigenschaften ändert. Solche Reagenzfarbstoffe für Nitrat sind nicht bekannt. Weiterhin können Nitrationen über ihre Absorption im sichtbaren Spektralbereich nicht direkt detektiert werden. Deshalb soll überprüft werden, ob durch Kombination eines Flüssigionenauschers mit einem im sichtbaren Spektralbereich absorbierenden Farbstoff in einer geeigneten transparenten polymeren Matrix, eine nitratselektive Sensorschicht entwickelt werden kann.

Die Auswahl der Komponenten soll unter folgenden Gesichtspunkten getroffen werden:

- selektive und reversible Wechselwirkung mit Nitrationen
- kurze Ansprechzeiten
- ausreichende Empfindlichkeit
- einfache und reproduzierbare Herstellung der Sensorschichten

2. Einführung in die Thematik

2.1 CHEMISCHE SENSOREN

2.1.1 Definition und Klassifizierung

Gemäß Definition der INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC-Kommission) [12] sind chemische Sensoren Meßwertaufnehmer, die chemische Informationen, über eine bestimmte Probenkomponente bis hin zur Gesamtanalyse, in analytisch auswertbare Signale umwandeln. Der chemischen Information liegt entweder eine chemische Reaktion des Analyten oder eine physikalische Änderung des Systems zugrunde.

Chemische Sensoren werden grundsätzlich durch zwei funktionelle Einheiten, **Rezeptor** und **Transducer** (Abb. 2.1), charakterisiert, können aber zusätzlich einen Separator, z.B. eine gaspermeable Membran, aufweisen.

Im Rezeptor (Erkennungssystem) wird die chemische Information in eine Energieform umgewandelt, die durch den Transducer in ein auswertbares analytisches Signal übersetzt wird.

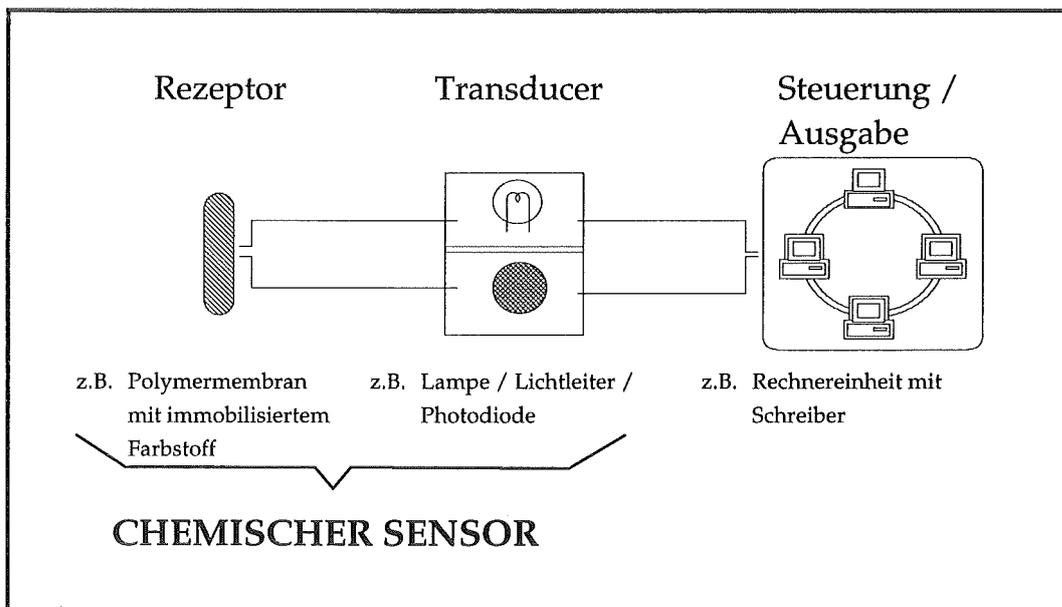


Abb. 2.1: Schematischer Aufbau einer chemischen Sensoreinheit

Chemische Sensoren können nach der Art ihres Erkennungssystems oder nach der Art ihres Transducers (Tabelle 2.1) in verschiedene Klassen eingeteilt werden.

Tab. 2.1: Klassifizierung der chemischen Sensoren [12] - [16]

Transducer	Meßprinzip / Meßgröße
1. optisch	Absorption Reflexion Lumineszenz Fluoreszenz Brechungsindex Lichtstreuung optothermischer Effekt
2. elektrochemisch	Potentiometrie Feldeffekt Amperometrie
3. elektrisch	Oberflächenleitfähigkeit Elektrolytleitfähigkeit
4. massensensitiv	Resonanzfrequenz eines piezoelektrischen Kristalls
5. magnetisch	Paramagnetismus
6. thermometrisch	Reaktionswärme Adsorptionswärme

Analytisch einsetzbare chemische Sensoren sollten folgende Anforderungen erfüllen:

- Selektivität: Der Sensor soll die zu bestimmenden Spezies in der vorliegenden Matrix möglichst ohne Querempfindlichkeit durch andere Verbindungen detektieren.
- Reversibilität: Konzentrationsänderungen des Analyten sollen in beide Richtungen ohne Verbrauch der Reaktanden in der sensitiven Schicht erfaßt werden können, um eine kontinuierliche Messung zu ermöglichen.
- Ansprechzeit: Die 99% - Werte des Gesamtsignals sollten im Minutenbereich liegen.

- Meßbereich: Der dynamische Bereich des Sensors sollte den gesetzlichen Grenzwert des Analyten abdecken.
- Meßfehler: Durch die an Sensoren gestellten speziellen Anforderungen (z.B. Messungen in-situ) muß mit einer gegenüber standardisierten Analysenverfahren reduzierten Meßgenauigkeit gerechnet werden. Der relative Fehler sollte bei mittleren Konzentrationen < 10 % betragen.
- Standzeit: Der Zeitraum, in dem der Sensor mit vorgegebener Genauigkeit eingesetzt werden kann, sollte mehrere Wochen betragen.
- Miniaturisierung: Für den Einsatz an unzugänglichen Stellen (Medizin, Umweltüberwachung), müssen kleine, leicht auswechselbare Systeme zur Verfügung stehen.

2.1.2 Faseroptische Sensoren

Die Fortschritte auf dem Gebiet der modernen Lichtleitertechnologien führten zur Entwicklung einer neuen Klasse von Sensoren, den faseroptischen Sensoren (Abb. 2.2).

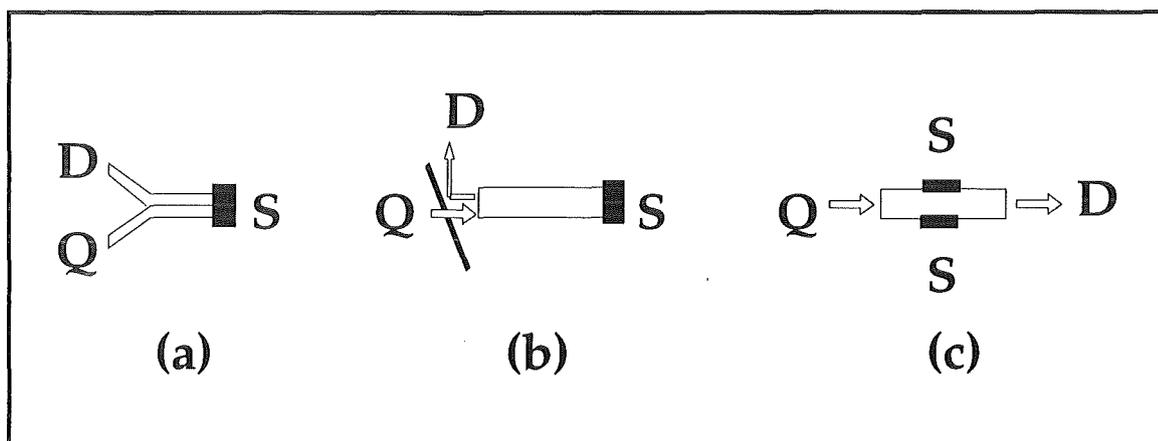


Abb. 2.2: Faseroptische Sensoren

Q = Lichtquelle, D = Detektor, S = sensitive Schicht (a) Sensor mit gegabeltem Lichtleiter
 (b) Einzelfaseroptik mit dichroitischem Spiegel (c) Mit sensitiver Schicht ummantelte Einzelfaser

In der üblichen Geräteanordnung wird Licht von einer Lichtquelle (z.B. Laser, Halogenlampe, Leuchtdiode) über Filter- und Linsensysteme in einen Lichtleiter eingekoppelt und

zur sensitiven Schicht geleitet. Das durch Wechselwirkung mit der Schicht modulierte Licht wird durch denselben oder einen zweiten Lichtleiter zu einer Photodiode oder einem Photomultiplier transportiert und in ein elektrisches Signal (Strom, Spannung) umgewandelt.

Faseroptische Sensoren werden als **Optoden** bezeichnet, entstanden durch die Kombination der Begriffe "optisch" und "Elektrode" [17-18]. Dieser Terminus beschreibt die Ähnlichkeit der Einsatzgebiete von Elektroden und Optoden; tatsächlich unterscheiden sie sich jedoch in ihrem Funktionsprinzip wesentlich voneinander, was sich in verschiedenen Vor- und Nachteilen beider Systeme ausdrückt.

Optische Messungen können durch einfallendes Streu- und Umgebungslicht gestört werden. Die verwendeten Indikatormoleküle können eine begrenzte Photostabilität aufweisen, möglicher Austrag von Farbstoff führt zu Signaldrifts. Sowohl Selektivität, als auch dynamischer Bereich sind bei den meisten Indikatoren begrenzt, weshalb Optoden im Gegensatz zu den Elektroden oftmals nur innerhalb eines kleineren Meßbereichs einsetzbar sind.

Der Hauptvorteil der Optoden besteht in der Messung ohne ein zusätzliches Referenzelement, das bei elektrochemischen Sensoren immer benötigt wird. Schwankungen der Lichtintensität können z.B. durch das Zweistrahlprinzip kompensiert werden. Mehrwellenlängenverfahren und Differenzspektroskopie ermöglichen die Kompensation von durch Auswaschungen verursachten Signaldrifts. Optische Messungen erlauben eine Multielementanalyse durch gleichzeitiges Messen an verschiedenen Banden, während elektrochemische Sensoren nur ein Potential detektieren, das durch verschiedene Analyten verursacht werden kann.

Elektromagnetische Felder und Oberflächenpotentiale stören die optische Signalübertragung nicht. Die Verwendung von Lichtleitern erlaubt die Herstellung kleiner und flexibler Sensoren, mit denen Proben vor Ort, auch in großer Entfernung und unter extremen Bedingungen (hohe Temperaturen, Radioaktivität), überwacht werden können. Optische Sensoren können für in-vivo-Messungen eingesetzt werden, während Elektroden ihre Umgebung stören können (Schockgefahr). Durch Verwendung von Kunststofflichtleitern, LED's und Photodioden sind kostengünstige Meßeinrichtungen realisierbar.

2.1.3 Optische Transduktion

Ionenverbindungen einiger Übergangsmetalle, wie z.B. von Kupfer(II), weisen in Lösung Eigenfärbung auf. Die meisten anorganischen Verbindungen absorbieren im sichtbaren Spektralbereich jedoch nicht. Es ist daher nötig, die Analytkonzentration in eine im sichtbaren Spektralbereich optisch detektierbare Größe zu übersetzen.

2.1.3.1 Optoden auf Basis von pH - Indikatoren

Die umfangreichsten Untersuchungen liegen über pH-Optoden vor. Einer der ersten optischen pH-Sensoren wurde durch Immobilisieren von Phenolrot auf Polyacrylamid-Partikeln am Ende eines Lichtleiters hergestellt [19].

pH-Indikatoren sind organische Farbstoffe, die den Charakter schwacher Säuren oder Basen besitzen und folgendem Dissoziationsgleichgewicht unterliegen:



Gewöhnlich weist das dissoziierte Indikator-Anion (Ind^-) eine Färbung auf, über deren Intensität die Konzentration der Wasserstoffionen bestimmt wird. Der Nachteil solcher Sensoren liegt in dem begrenzten analytisch nutzbaren Bereich von ca. 2 pH-Einheiten.

pH-Optoden bilden auch die Grundlage für einige Gassensoren wie NH_3 -Optode [20] und CO_2 -Optode [19,21]. Hier besteht die sensitive Schicht aus einer Innenlösung mit einem Indikator, die durch eine gaspermeable Membran von der Analytlösung getrennt ist. Das Gas verändert nach Diffusion durch die Membran den pH-Wert der Innenlösung und wird über die Absorptionsänderung des Indikators detektiert.

2.1.3.2 Optoden auf Basis von Komplexbildnern

Viele Metallionen bilden mit organischen Farbstoffen Komplexe unter meßbaren Veränderungen ihrer optischen Eigenschaften, wie Absorption oder Fluoreszenz. Durch Immobilisierung der Komplexbildner Morin und Calcein auf silanisiertem Glas wurden Fluoreszenzsensoren für Aluminium und Zink entwickelt [22]. Cadmiumsensitive Schichten wurden durch Einsatz von Porphyrinderivaten, die durch Komplexierung von Metallionen charakteristische Veränderungen ihrer Absorptionsspektren aufweisen, hergestellt [23].

Diesen Optoden liegt folgende Gleichgewichtsreaktion zugrunde:



K_D = Dissoziationskonstante

M = Metall

L = organischer Komplexbildner

x,y = Stöchiometriefaktoren

u,v = Ladungszahlen

Bei Auswahl der Komplexbildner muß neben den optischen Eigenschaften auf die Größe der Dissoziationskonstanten geachtet werden, da diese direkt die Reversibilität des Sensors bestimmt.

Im allgemeinen sind solche Komplexierungsreaktionen nur bedingt spezifisch. Dieser Nachteil kann allerdings über die Verwendung von Sensorarrays unter Zuhilfenahme chemometrischer Auswertemethoden ausgeglichen werden [22].

2.1.3.3 Optoden mit kompetitiver Bindung

Sensoren mit kompetitiver Bindung ermöglichen die Detektion von Analyten, deren Reaktionen in der Rezeptorschicht direkt keine Änderung der optischen Eigenschaften bewirken.

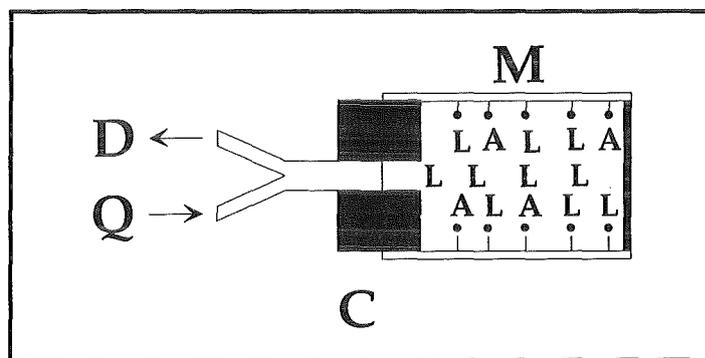


Abb. 2.3: Glukose-Biosensor mit kompetitiver Bindung

Q= Lichtquelle; D= Detektor; C= Faserummantelung; M=glukosepermeable Membran
 † = immobilisiertes Concavalin A; A= Glukose; L= fluoreszenzmarkiertes Dextran

Diese Optoden weisen ein immobilisiertes Reagens (†) auf, das den Analyten (A) bevorzugt binden kann. Gleichzeitig enthält die Innenlösung einen Liganden (L), der mit A um Bindungsstellen an † konkurriert und die Reagenzphase nicht verlassen kann, während A zwischen Rezeptorschicht und Analytlösung frei beweglich ist.

Die kompetitive Bindung von Glukose (A) und fluoreszenzmarkiertem Dextran (L) an das Rezeptorprotein Concavalin A (†) als spezifisches Reagens, ermöglicht den Aufbau eines faseroptischen Glukose-Biosensors [24]. Tritt Glukose durch eine für diesen Analyten permeable Membran in den Reaktionsraum ein, wird Dextran von der Bindungsstelle an dem immobilisierten Concavalin A verdrängt und diffundiert in die von dem Lichtleiter beleuchtete Zone. Das optische Signal ist der Glukosekonzentration in der Lösung proportional.

2.2 IONENSELEKTIVE POLYMERMEMBRANEN FÜR OPTODEN

Neuere Entwicklungen verfolgen das Ziel, die potentialbestimmenden Vorgänge bei ionenselektiven Membranelektroden auf optische Systeme zu übertragen.

Ionenselektive "Flüssig"-Membranen werden in der Regel aus einem inerten Polymer (z.B. Polyvinylchlorid) als Gerüstmatrix, Weichmacher zur Plastifizierung der Membranphase und einem Ionophor hergestellt [25-27]. Ionophore sind organische, wasserunlösliche Flüssigionenaustauscher oder neutrale Komplexbildner (Carrier), die das Analyt ion selektiv in der Membranphase binden können. Voraussetzung der potentiometrischen Bestimmung ist eine Ladungsseparation an der Phasengrenze, d.h. nur dem zu bestimmenden Meßion darf ein nennenswerter Phasendurchtritt ermöglicht werden.

Wird eine solche Membranelektrode in eine Elektrolytlösung getaucht, kommt es zu Phasenübergängen des Analyt ions, deren Richtung vom Gradienten des chemischen Potentials dieses Ions in der Membran und der Lösung abhängt, wodurch sich die Phasengrenze zunehmend auflädt. Durch den Aufbau des elektrischen Feldes wird der anfänglich begünstigte Ionendurchtritt gebremst und die Rückreaktion gefördert. Im Gleichgewicht sind die Ionenströme in beide Richtungen gleich groß, und die sich einstellende Potentialdifferenz ist konstant und meßbar. Der Zusammenhang zwischen der Ionenaktivität und dem elektrochemischen Potential wird durch die Nernst - Gleichung beschrieben:

$$E = E_0 + \frac{RT}{zF} \cdot \ln \frac{a_p}{a_r}$$

- E = Elektrodenpotential
- E_0 = Standardelektrodenpotential
- R = Gaskonstante
- T = Temperatur
- z = Ladungszahl
- F = Faradaykonstante
- a_p = Aktivität des Meßions in der Probenlösung
- a_r = Aktivität des Meßions in der Referenzlösung

Üblicherweise liegt bei der potentiometrischen Messung jedoch nur ein geringer Anteil des Carriers in der Membran komplexiert vor [28]. Die Konzentration des Ionophor-Meßion-Komplexes ist weitgehend konstant und vorgegeben durch die Anzahl der verfügbaren Bindungsstellen entgegengesetzter Ladung in der Membran. Werden eine Membranfläche von 10^{-4} m^2 und eine Dicke von 10^{-5} m zugrunde gelegt, genügen zur PotentialEinstellung von 59 mV an PVC-Membranelektroden, entsprechend der Konzentrationsänderung eines einwertigen Analyt ions um eine Dekade, schon ca. $2 \cdot 10^{-16} \text{ Mol}$ des Ions in der Membranphase [23, S.108]. Aus diesem Grund können solche Membranen für potentiometrische Messungen, jedoch nicht für die optische Detektion eingesetzt werden, da die Menge an komplexierten Analyt ionen (und damit die optische Signaländerung) in der Membranphase zu gering ist.

Für den Einsatz ionenselektiver Polymermembranen in Optoden muß demnach das entstehende Potential an der Phasengrenzfläche abgebaut werden, damit eine möglichst große Anzahl von Meßionen in die Membran eintreten und komplexiert werden kann. Dies ist prinzipiell auf zwei Arten erreichbar [29]:

- 1) Gleichzeitige Extraktion von Kationen und Anionen (Co-Transport) aus der Probenlösung in die Membran, durch Kombination eines anionenselektiven Ionophors mit einem kationenselektiven Ionophor, von denen mindestens einer Chromoionophor ist (Abb 2.4).
- 2) Gleichzeitiger Ionenaustausch von Kationen oder Anionen (Counter-Transport) zwischen Membran und Probenlösung (Abb. 2.5) durch Kombination von:
 - einem anionenselektiven neutralen Carrier mit einem Anionentauscher (entsprechendes gilt für Kationenaustauschsysteme), wobei mindestens einer ein Chromoionophor ist, bzw.
 - zwei verschiedenen anionenselektiven Ionophoren mit positiv geladenen Bindungstellen (und umgekehrt für Kationenaustauschsysteme), von denen mindestens einer Chromoionophor ist.

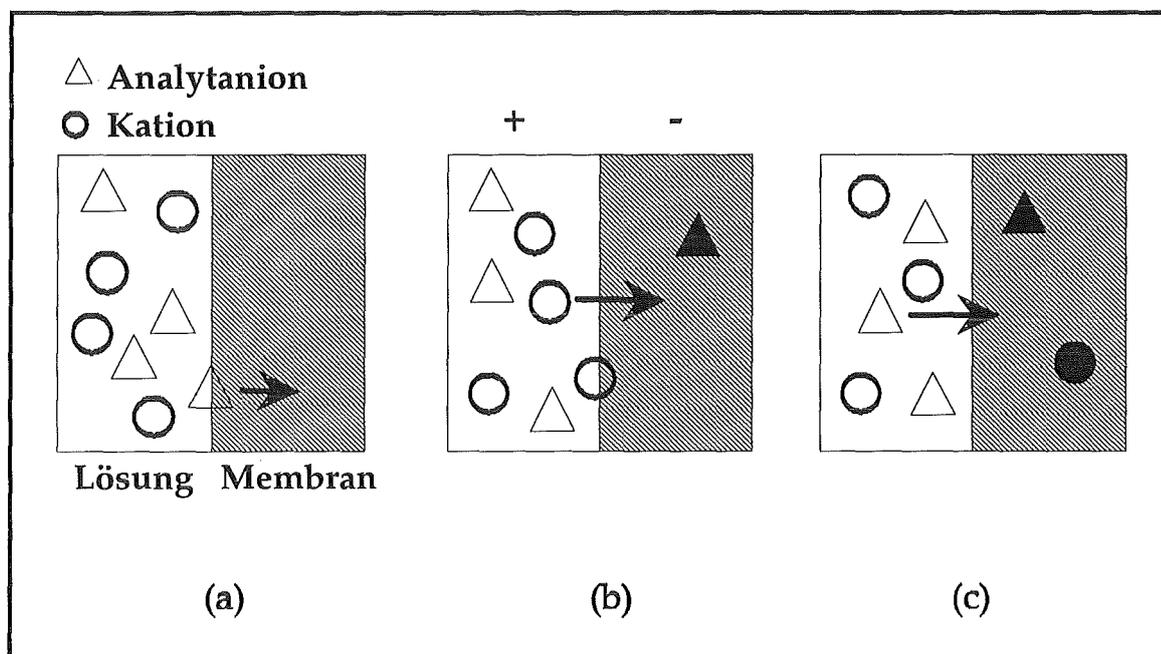


Abb. 2.4: Co - Transport
 Der Phasenübertritt (a) von Anionen bewirkt eine negative Aufladung der Membran gegenüber der Lösung (b). Die Extraktion von Kationen durch einen zweiten Ionophor führt zur Ladungskompensation, wodurch erneut Anionen in die Membran eintreten können (c).

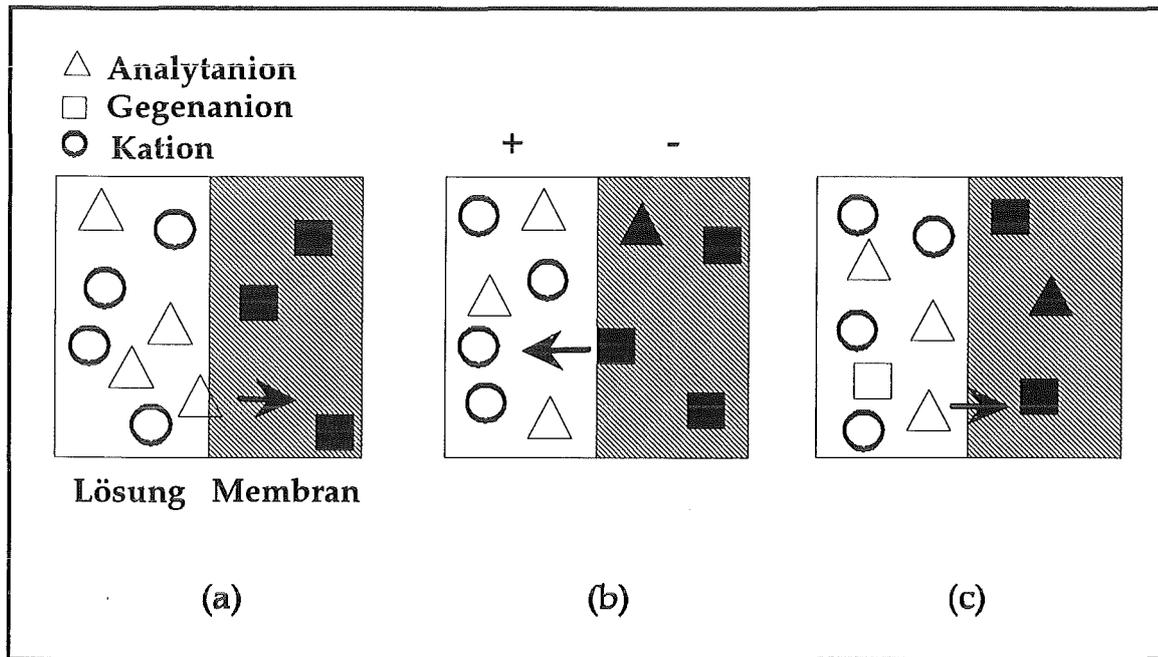


Abb. 2.5: Counter - Transport
 Hier wird das analog Abb. 2.4 entstehende Potential (a) durch Transport von Gegenanionen in die Probenlösung abgebaut (b), wodurch erneut Analytanionen in der Membran komplexiert werden können (c).

2.2.1 Membranaktive Flüssigionenaustauscher

In der vorliegenden Arbeit sollen, ausgehend von nitratselektiven Elektroden, ein Flüssigionenaustauscher (zur Erzielung der Sensitivität und Selektivität) mit einem Chromoionophoren (optische Indikation und Co-Transport) in einer Polymermembran kombiniert werden. In diesem Abschnitt werden die Eigenschaften solcher Flüssigionenaustauscher und ihre Auswirkungen auf die Selektivität von Polymermembranen erläutert.

Flüssigionenaustauscher besitzen eine zum Ionenaustausch fähige Bindungsstelle und gleichzeitig einen großen unpolaren Anteil, wodurch sie wasserunlöslich sind. Zur Herstellung von anionenselektiven Flüssigmembranen werden z.B. langkettige quaternäre Ammoniumsalze oder Phosphoniumsalze verwendet. Eine weitere wichtige Klasse anionenselektiver Austauschermaterialien stellen o-Phenanthrolin-Komplexe und substituierte Phenanthrolin-Komplexe von Eisen(II) und Nickel(II) dar (Abb. 2.6).

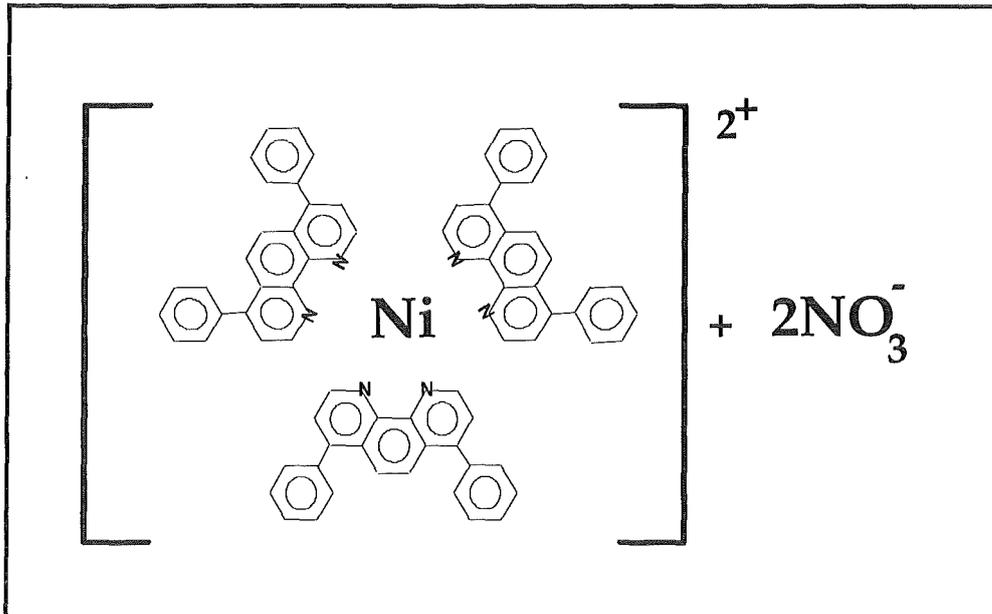


Abb. 2.6: Nitratsalz des Ni(II)tris-bathophenanthrolin - Komplex:
 $\text{Ni}[\text{bphen}]_3(\text{NO}_3)_2$

Diese Metallionenkomplexe sind stabil und weisen eine um Größenordnungen geringere Austauschrate für das Übergangsmetall im Gegensatz zur Anionenaustauschrate auf. Die positiven Ladungen sind aufgrund des aromatischen Ringsystems der Liganden stark delokalisiert. Es ist zu erwarten, daß solche Komplexbildungen, wegen der niedrigen Ladungsdichte, mit großen polarisierbaren ("weichen") Anionen, wie Nitrat oder Perchlorat, stabilere Komplexe bilden als mit kleinen ("harten") Anionen [30].

Da die wasserunlöslichen Salze dieser Verbindungen als Feststoffe vorliegen, werden sie zur Herstellung von Flüssigionentauschern in geeigneten organischen, mit Wasser nicht mischbaren Lösemitteln gelöst. Bevorzugte Lösungsmittel sind Nitroaromaten wie 2-Nitro-p-cymol oder o-Nitrophenyl-octylether, die einen niederen Dampfdruck und geringe Toxizität aufweisen. Bei der Fertigung von Polymermembranen für Optoden muß die Bildung einer homogenen Lösung in der inerten Matrix gewährleistet sein, um transparente Membranen herstellen zu können. Zur Erhaltung der Mobilität des Flüssigionentauschers muß das Lösungsmittel zusätzlich plastifizierende Eigenschaften aufweisen.

Abb. 2.7 zeigt schematisch die Situation in einer so hergestellten Flüssig-Polymermembran ohne zweiten Ionophor zum Ladungsausgleich.

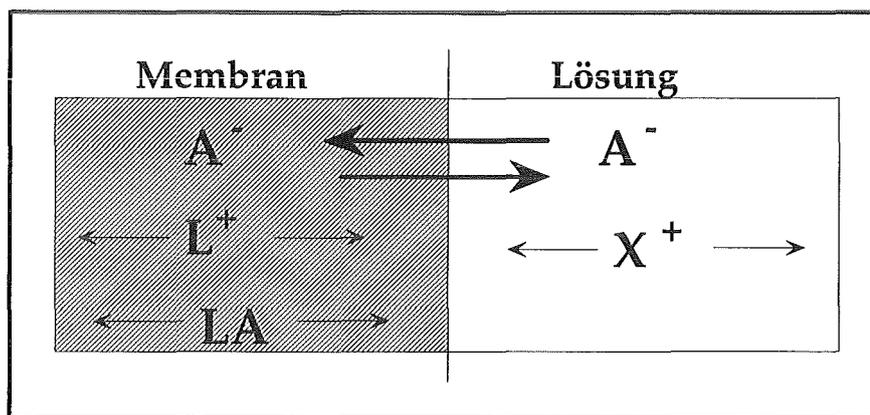


Abb. 2.7: Diagramm einer Flüssig-Polymer-Membran
 A^- = Analytanion; L^+ = Komplekkation; X^+ = Co-Ion

Das Analyt A^- ist durch die Grenzflächen zwischen Membran und Lösung frei beweglich, während das lipophile Austauscherkation L^+ und der Analyt-Ionophor-Komplex innerhalb der plastifizierten Polymerphase mobil aber eingeschlossen sind. Aufgrund der Elektroneutralitätsbedingungen können andere Kationen (X^+) aus der Probenlösung nicht in die Membran eintreten.

2.2.2 Selektivität anionensensitiver Polymermembranen

Die selektivitätsbestimmenden Vorgänge an Polymermembranelektroden können zunächst für Selektivitätsbetrachtungen an Optoden, die auf der Basis solcher Membranen entwickelt werden, zugrunde gelegt werden. Hier soll wieder eine anionensensitive Polymermembran, mit dem Flüssigionenaustausch-System aus $Ni[bphen]_3^{2+}$ -Salz und einem Nitroaromaten als Mediator, ohne optische Transduktion, betrachtet werden.

Sind in der wässrigen Phase außer dem Analyt andere Ionen gleicher Ladung vorhanden, können auch diese in die Membranphase eindringen. Die Selektivität ist ein Maß, wie sehr der Durchtritt des Analyts in die Membranphase gegenüber anderen Ionen gleicher Ladung bevorzugt wird.

Die Potentialeinstellung bei ionenselektiven Elektroden wird in erster Linie durch Ionenaustauschprozesse an der Grenzschicht zwischen Membran und Lösung bewirkt. Daneben wird das Potential jedoch auch von Faktoren beeinflusst, die mit dem Transport der am Ionenaustausch beteiligten Spezies in die Lösung bzw. in die Membranschicht hinein zusammenhängen. Diese Transportphänomene hängen von ionischen Eigenschaften wie Beweglichkeiten, Diffusionskoeffizienten und Konzentrationsgradienten der Spezies an der Grenzfläche und in der Membran ab. Sie bewirken die zeitabhängige Einstellung des elektrochemischen Potentials an der Grenzfläche zwischen Membran und wässriger Lösung. Je größer der Unterschied zwischen den Selektivitätskoeffizienten der an der Elektrodenreaktion beteiligten Spezies ist, desto größer wird die Zeit bis zum Erreichen des Gleichgewichtspotentials [31].

Für die nachfolgende qualitative Selektivitätsbetrachtung ist lediglich das sich einstellende Gleichgewichtspotential von Interesse, weshalb langsam ablaufende Ionenaustauschprozesse an der Grenzschicht und zeitabhängige Effekte, die aus Änderungen der Konzentrationsprofile in der Membran resultieren, vernachlässigt werden.

Untersuchungen an ionenselektiven Flüssigmembranelektroden haben gezeigt, daß die Selektivität sowohl von der Natur des Ionentauschermoleküls, als auch von den Eigenschaften des Lösungsmittels beeinflusst wird [31-33].

Eine Selektivitätsbetrachtung bei ionenselektiven Elektroden auf Basis von Flüssigionentauschern erfordert die Unterscheidung dreier Grenzfälle.

In den Fällen, wo entweder Ionentauscher und Gegenion stark dissoziiert in der Membranphase vorliegen (**Fall a**), oder Ionentauscher und Gegenion zwar stark assoziiert vorliegen, die Mobilität des Gegenions in der Membran jedoch viel größer als die des Ionentauschers ist (**Fall b**), kann der Selektivitätskoeffizient $K_{A^-B^-}$ ausgedrückt werden als:

$$K_{A^-B^-} = \frac{u_{A^-} \cdot k_{A^-}}{u_{B^-} \cdot k_{B^-}} \quad (I)$$

$K_{A^-B^-}$ = Selektivitätskoeffizient
 u_{A^-}, u_{B^-} = Beweglichkeit der konkurrierenden Ionen A^- und B^- in der Membran
 k_{A^-}, k_{B^-} = Verteilungskoeffizienten der Ionen zwischen wässriger und organischer Phase

Das Verhältnis der Koeffizienten k_{A^-} / k_{B^-} repräsentiert die Gleichgewichtskonstante des Ionenaustauschprozesses



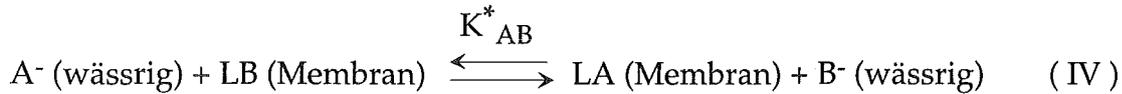
Die Selektivität ist in diesen Fällen von den chemischen Eigenschaften des Ionentauschermoleküls unabhängig.

Bei Membranen, wo starke Assoziation (Ionenpaarbildung) vorliegt, und der Ionentauscher im Verhältnis zu den Gegenionen sehr gut beweglich ist (**Fall c**), kann der Selektivitätskoeffizient $K_{A^-B^-}$ näherungsweise ausgedrückt werden durch:

$$K_{A^-B^-} = \frac{u_{LA}}{u_{LB}} \cdot K_{AB}^* \quad (III)$$

$K_{A^-B^-}$ = Selektivitätskoeffizient
 u_{LA}, u_{LB} = Beweglichkeit der Ionenpaare in der Membran
 K_{AB}^* = Gleichgewichtskonstante in Gl. (IV)

K_{AB}^* ist die Gleichgewichtskonstante der Ionenaustauschreaktion:



Sind K_{LA} und K_{LB} die Dissoziationskonstanten der Ionenpaare in der Membran, ergibt sich für K_{AB}^*

$$K_{AB}^* = \frac{k_{A^-} \cdot K_{LB}}{k_{B^-} \cdot K_{LA}} \quad (\text{V})$$

k_{A^-}, k_{B^-} = Einzelverteilungskoeffizienten der Ionen zwischen wässriger und organischer Phase

Hier hängt die Selektivität nicht nur von den Eigenschaften des Lösungsmittels, sondern auch von den chemischen Eigenschaften des Ionentauschers ab, da sie sowohl durch die Dissoziationskonstanten der Ionenpaare als auch durch das Verhältnis der Beweglichkeiten der konkurrierenden Ionenpaare in der Membran beeinflusst wird.

Werden Lösemittel mit Dielektrizitätskonstanten $\epsilon > 10$, wie Nitroaromaten, mit Übergangsmetallkomplexen kombiniert, liegen die Ionentauschermoleküle stark dissoziiert in der Membran vor (Fall a).

Die Ionenpaarbildungskonstanten von Komplexsalzen des $Ni[bphen]_3^{2+}$ in nichtwässrigen Lösungsmitteln sind zwar nicht bekannt, aber es ist zu erwarten, daß die Beweglichkeit dieser großen Kationen in der Membranphase wesentlich kleiner als die der Gegenanionen ist (Fall b).

Da die Ionenbeweglichkeit für einwertige Anionen in der Membran annähernd gleich groß ist ($u_{A^-} \approx u_{B^-}$) [31], kann bei Kombination von $Ni[bphen]_3(NO_3)_2$ mit 2-Nitro-p-cymol als Flüssigionentauscher für eine Polymermembranelektrode der Selektivitätskoeffizient nach Gleichung (I) ausgedrückt werden als

$$K_{A^-B^-} \approx \frac{k_{A^-}}{k_{B^-}} \quad (\text{VI})$$

Die Selektivität solcher Membranelektroden für verschiedene Anionen sollte unabhängig von den Eigenschaften des Ionentauschermoleküls und seiner Konzentration in der Membran sein. Nach Gleichung (II) und Gleichung (VI) hängt die Selektivität in erster Linie von

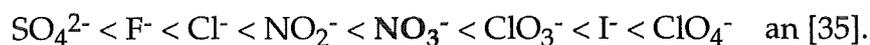
der relativen Stärke der Wechselwirkungen zwischen Ionen und Lösungsmittel in den beiden Phasen ab. Die Unterschiede der Solvatationsenergien in Gleichung (II) können durch die Differenzen der Hydratationsenthalpien in der wässrigen und der Solvatationsenthalpien in der Membranphase der Anionen A⁻ und B⁻ ausgedrückt werden [31]:

$$\Delta H^0_{A^-/B^-} = (\Delta H^0_{\text{mem},A^-} - \Delta H^0_{\text{mem},B^-}) - (\Delta H^0_{\text{aq},A^-} - \Delta H^0_{\text{aq},B^-}) \quad (\text{VII})$$

In aprotischen Lösungsmitteln, wie Nitroaromaten, weisen die Anionen eine kleinere Solvatationsenergie­differenz als in wässriger Lösung auf. Aus diesem Grund wird die Selektivität in erster Linie durch die Hydratationsenergie­differenz in der wässrigen Phase bestimmt.

Tatsächlich wurde eine gute Übereinstimmung zwischen der Selektivität solcher Elektroden und Ionengröße und Hydratationsenergie von Anionen gefunden [31,34].

Für eine nitratselektive Polymermembranelektrode mit Ni[bphen]₃(NO₃)₂ und 2-Nitro-p-cymol als membranaktive Substanzen steigt die Selektivität gegenüber folgenden Anionen in der Reihe



3. Experimenteller Teil

3.1 CHEMIKALIEN UND REAGENZIEN

Die verwendeten Chemikalien wurden, wenn nicht anders vermerkt, von den Firmen ALDRICH, FLUKA und MERCK bezogen.

3.1.1 Flüssigionentauscher

Für Vorversuche in Lösung und zur Herstellung erster sensitiver Schichten wurde ein kommerziell erhältlicher Flüssigionentauscher (Typ 92-07-02, Orion Research, Inc. Boston, USA) für nitratselektive Elektroden verwendet. Es handelt sich hierbei um eine gesättigte Lösung von $\text{Ni}[\text{bphen}]_3(\text{NO}_3)_2$ in 2-Nitro-p-cymol.

3.1.1.1 Synthese von $\text{Ni}[\text{bphen}]_3(\text{NO}_3)_2$ in 2-Nitrophenyl-octylether

Der Nitroaromat 2-Nitrophenyl-octylether (NPOE) eignet sich aufgrund seiner Dielektrizitätskonstanten von $\epsilon = 23,5$ [36] und seiner plastifizierenden Eigenschaft gleichermaßen als Lösungsmittel für den Ionen-Assoziat-Komplex $\text{Ni}[\text{bathophenanthrolin}]_3(\text{NO}_3)_2$ und als Weichmacher für Polymermembranen. Um Polyvinylchlorid (PVC) - Membranen mit höherem Ionophoranteil zu realisieren, wurde in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von Ross [37] eine gesättigte Lösung von $\text{Ni}[\text{bphen}]_3(\text{NO}_3)_2$ in NPOE hergestellt.

Dazu wurden 70 ml Chloroform mit 0,29 g wasserfreiem Nickel(II)chlorid (2,2 mmol), 2,3g 4,7-Diphenyl-1,10-phenanthrolin (7 mmol) und 150 ml NPOE versetzt und unter Rückfluß 3 h gekocht. Danach wurde bei einer Temperatur von 140°C Chloroform vollständig aus der Reaktionsmischung abgetrennt. Die abgekühlte Lösung wurde zur Herstellung des Nitratsalzes in mehreren Schritten mit jeweils 500 ml NaNO_3 - Lösung (0,5 M) extrahiert, bis die wässrige Phase mit AgNO_3 - Lösung keinen Niederschlag mehr bildete.

Die organische Phase wurde separiert und ohne weitere Reinigung eingesetzt.

3.1.2 Stammlösungen

3.1.2.1 Organische Lösungen

Ionentauscherlösung für Extraktionsversuche:

Für Vorversuche in Lösung wurde die Polymermatrix PVC durch Dichlormethan simuliert. Zur Extraktion der verwendeten Indikatoren wurde eine Lösung von 4,0 ml Flüssig-ionentauscher (Orion 92-07-02) in 1000 ml CH_2Cl_2 verwendet.

Polyvinylchlorid (PVC) - Stammlösungen:

Polymerstammlösungen wurden durch Lösen entsprechender Mengen an PVC in 50 ml Tetrahydrofuran (THF) hergestellt.

PVC-Stammlösung 1: $c = 80 \text{ mg/ml}$.

PVC-Stammlösung 2: $c = 130 \text{ mg/ml}$.

Bromkresolpurpur - Stammlösung:

Die Indikatorstammlösung wurde durch Lösen von 80 mg Bromkresolpurpur (BKP) in 100 ml THF hergestellt.

BKP-Stammlösung: $0,8 \text{ mg/ml}$.

BKP/LA-2 - Lösung:

Zur Herstellung dünner Membranen mit ausreichend hoher Extinktion wurde die Farbstoffkonzentration in den Membranen erhöht. Dazu wurde BKP als Ionenpaar mit einem schwach basischen Anionentauscher in die Membran eingebracht.

100 μl des schwach basischen Anionentauschers LA-2 (Amberlite^R) wurden in 10 ml CH_2Cl_2 gelöst. Diese Lösung wurde mit einer gesättigten wässrigen Lösung von BKP vereinigt und geschüttelt. Der Ionentauscher extrahiert dabei den Farbstoff aus der wässrigen in die organische Phase. Nach Abtrennung der wässrigen Phase und Abdampfen des organischen Lösungsmittels wurde der Rückstand in 10 ml THF aufgenommen.

3.1.2.2 Wässrige Lösungen

Alle wässrigen Lösungen wurden in demineralisiertem Wasser bei 20°C hergestellt.

Anionenstammlösungen:

Anionenstammlösungen verschiedener Konzentrationen wurden durch Einwaage der entsprechenden Natriumsalze und Auflösen in Wasser hergestellt.

Ionenstärke - Adjustor- Lösung (ISA):

Die Einstellung konstanter Ionenstärken erfolgte durch Zugabe aliquoter Anteile einer 1 M Na_2SO_4 - Lösung.

Pufferlösung pH 6,9:

Zur Herstellung der Pufferlösung wurden 100 ml einer gebrauchsfertigen Phosphat-Pufferlösung 6,88 (Merck) mit 15 ml ISA-Lösung auf 1000 ml aufgefüllt. Die Ionenstärke beträgt ca. $6 \cdot 10^{-2}$ mol/l.

Indikatorstammlösungen für Extraktionsversuche:

Je 10 mg Bromkresolpurpur bzw. Bromphenolblau wurden in 1000 ml Pufferlösung pH 6,9 gelöst.

3.2 SENSORHERSTELLUNG

3.2.1 Gegossene Membranen (Methode I)

Zur Membranherstellung nach Methode I (Gießverfahren) wurden folgende Mischungen hergestellt:

a) 1 ml PVC-Stammlösung 1 wurde mit 0,5 ml BKP-Stammlösung, 160 mg Weichmacher (Bis[2-ethylhexyl]sebacat bzw. 2-Nitrophenyl-octylether) und 75 mg Flüssigionentauscher (Orion 92-07-02) in einer Petrischale homogen vermischt.

b) 1 ml PVC-Stammlösung 1 wurden mit 1 ml BKP-Stammlösung sowie 160 mg der NPOE/Ni(II)trisbathophenanthrolin-Lösung homogen vermischt.

250 ml der jeweiligen Membranmischung wurden in einen Glasring (Durchmesser 2,5 cm) auf ein Glasplättchen gegossen (Abb. 3.1). Zur Vermeidung von Staubeintrag wurde der Glasring mit einem Filterpapier bedeckt und die Mischung stehengelassen, bis das Lösemittel THF abgedampft war. Danach wurde der Glasring entfernt und die erhaltene Membran am Rand angeklebt (UHU Allplast; UHU GmbH, Bühl), um ein Ablösen zu verhindern.

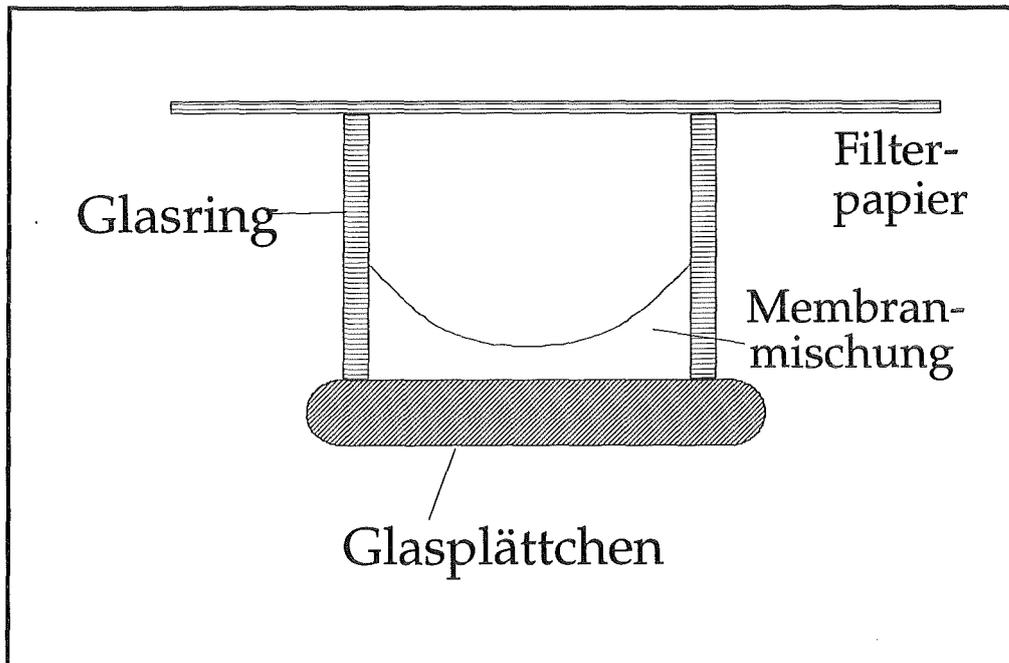


Abb. 3.1: Herstellung von PVC - Membranen nach Methode I

3.2.2 Geschleuderte Membranen (Methode II)

Zur Membranherstellung nach Methode II wurde folgende Mischung hergestellt:

Der Trockenrückstand aus 1 ml BKP/LA-2 - Lösung wurde mit 1 ml PVC-Stammlösung 2 und 200 mg der NPOE/Ni(II)trisbathophenanthrolin-Lösung homogen vermischt.

Aliquote dieser Membranmischung wurden auf ein mit 1750 Umdrehungen pro Minute rotierendes Plexiglasplättchen mit 3 cm Durchmesser pipettiert (Abb. 3.2).

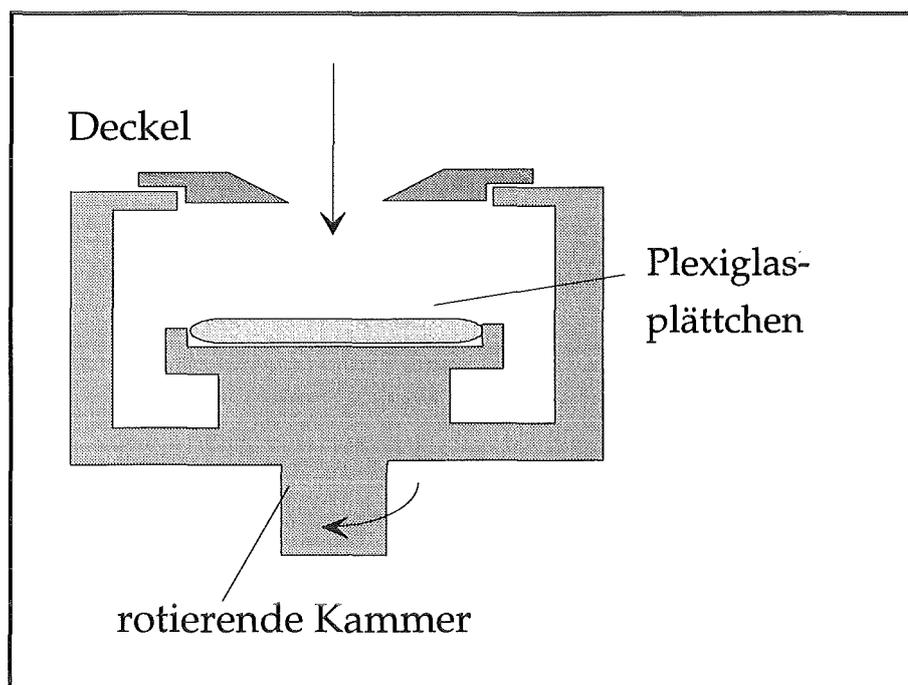


Abb. 3.2: Herstellung von PVC-Membranen nach Methode II

Auf diese Weise konnten dünne Membranen (Schichtdicke $\leq 10 \mu\text{m}$) reproduzierbar hergestellt werden. Die Schichtdickenbestimmung erfolgte durch spektrale Interferenz- und Reflexionsmessungen an entsprechend beschichteten Siliciumwafern mit einem Schichtdickenbestimmungsgerät (Leitz MPV-SP).

3.3 ABSORPTIONSMESSUNGEN

3.3.1 Messung in Lösung

In Vorversuchen wurde ein spektralphotometrischer Nachweis durch Flüssigextraktion entwickelt, um die Eignung der verwendeten Reagenzien im Hinblick auf eine reversible Nitratbestimmung zu testen.

Meßgerät:

Die Messungen wurden mit einem Zweistrahl-Spektralphotometer (Shimadzu, Modell UV 2100) in verschließbaren Quarzküvetten (1cm · 1cm) durchgeführt.

Nitrat-Standardlösungen:

Für Extraktionsversuche mit Bromkresolpurpur wurden folgende Lösungen in Phosphat-Puffer pH 6,9 hergestellt:

Lösung	A	B	C	D	E
$c_{\text{NO}_3^-}$ [mg/l]	0	10	20	50	100

Für Extraktionsversuche mit Bromphenolblau wurden die Lösungen A-E mit H_3PO_4 (3 M) auf pH 4,5 eingestellt.

Reagenslösungen:

Je 300 ml der wässrigen Indikatorstammlösung wurden in einem Scheidetrichter mit 250 ml Ionentauscherlösung bis zur vollständigen Entfärbung der wässrigen Lösung extrahiert. Nach Phasentrennung wurde die organische Reagenslösung separiert.

Versuchsdurchführung:

20 ml Standardlösung wurden in einem Scheidetrichter mit 20 ml Reagenslösung 1 Min. extrahiert. Nach vollständiger Phasentrennung wurden 3 ml der organischen Lösung gegen einen Blindwert (Ionentauscherlösung) spektralphotometrisch gemessen.

Zur Untersuchung auf Reversibilität wurden die Meßlösungen danach wieder mit den Reagenslösungen vereinigt, mit Pufferlösung extrahiert und erneut photometrisch bestimmt.

3.3.2 Messung mit PVC - Membranen

Meßgerät:

Die Absorptionsmessungen an Membranen wurden mit einem Photodiodenarray - Spektralphotometer (Hewlett Packard, HP 8452A) durchgeführt.

3.3.2.1 Diskontinuierliche Messungen

Zur Messung der auf Glasplättchen fixierten PVC-Membranen wurde eine Küvette (Innenvolumen ca. 9 ml) aus Hartkunststoff mit eingeklebten Plexiglasfenstern verwendet (Abb. 3.3). Die Glasplättchen konnten durch eine eingefräste Nut in der Küvette fixiert und dadurch reproduzierbar in den Strahlengang eingebracht werden.

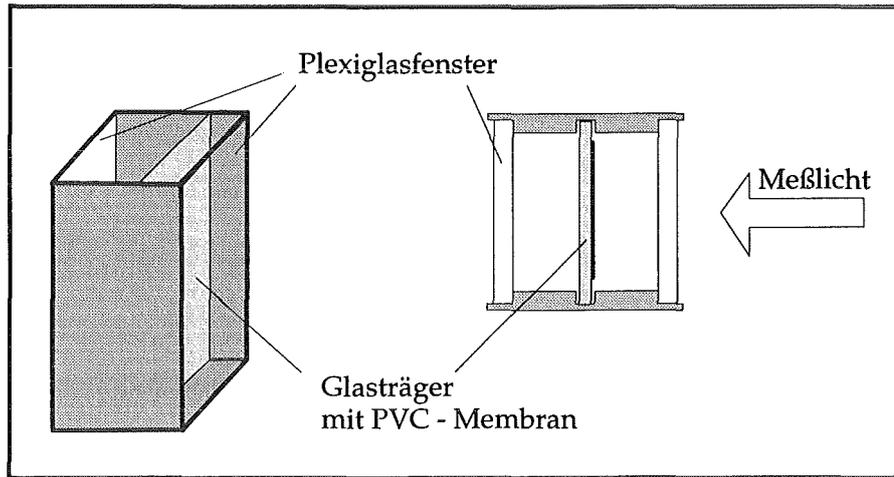


Abb. 3.3: Meßküvette für Transmissionsmessungen im Batch - Betrieb

3.3.2.2 Kontinuierliche Messungen im Durchfluß

Mit der Verwendung einer Durchflußküvette (Abb. 3.4) wurde es möglich, kontinuierlich Messungen durchzuführen, ohne die Polymermembran aus dem Strahlengang des Photometers zu entfernen.

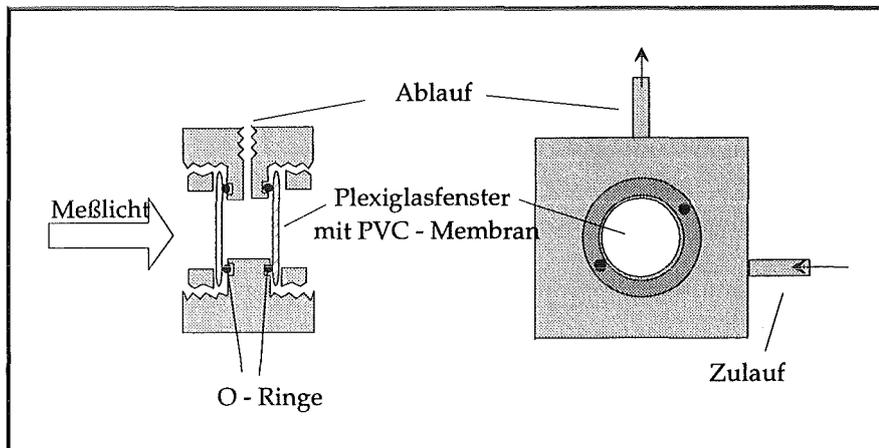


Abb. 3.4: Durchflußküvette für Transmissionsmessungen

Apparativer Meßaufbau:

Durch Kombination von Durchflußküvette mit einem Mehrkanal-Ventilantrieb (Sepaport HSA-222, Kronwald) und einer regelbaren Peristaltikpumpe war es möglich, den Sensor mit bis zu zwölf verschiedenen Meßlösungen kontinuierlich zu testen (Abb. 3.5). Die Steuerung des Ventilantriebs erfolgte über eine Rechneinheit durch ein selbstentwickeltes Steuerungsprogramm.

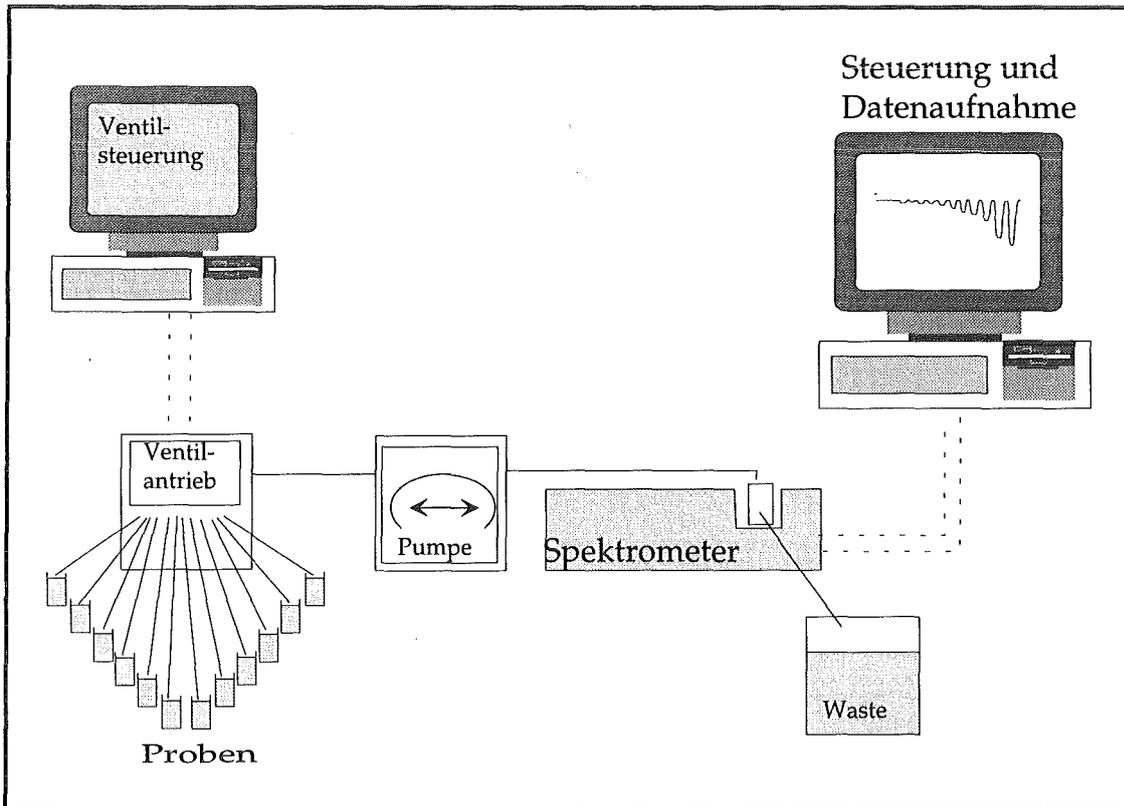


Abb. 3.5: Meßaufbau zur kontinuierlichen Nitratbestimmung

3.4 BESTIMMUNG DES NITRATGEHALTES IN REALEN PROBEN

3.4.1 Probenahme

Die Probenahme erfolgte gemäß den Deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (DEV) [38].

Probenart	Verfahren
Trinkwasser	DIN 38402 - A14
Flußwasser	DIN 38402 - A15
Seewasser	DIN 38402 - A12
Brunnenwasser	DIN 38402 - A14

Die Probenahmeprotokolle der einzelnen Wässer sind in Anhang A1 aufgeführt.

3.4.2 Ionenchromatographie

Als Referenzanalytik für die Nitratbestimmung in realen Proben wurde die Ionenchromatographie eingesetzt. Die Nitratbestimmung erfolgte gemäß DEV [38] Verfahren DIN 38405 - D19. Die Proben wurden ohne Vorbehandlung zur Analyse eingesetzt.

Chromatographische Bedingungen:

Gerätetyp:	Dionex 2000i/SP
Vorsäule:	Dionex HPIC - AG4A
Trennsäule:	Dionex HPIC - AS4A
Eluens:	1,7 mmol/l NaHCO ₃ 1,8 mmol/l Na ₂ CO ₃
Durchflußrate:	1,5 ml/min
Detektion:	Leitfähigkeit im Bereich 10 - 1000 µS
Suppression:	Dionex AMMS
Auswertung:	Externe-Standard-Methode über Peakflächen

3.4.3 Messung realer Proben mit Optode und nitratselektiver Elektrode

Probenvorbereitung:

Für die Nitratbestimmung mit Sensor und Elektrode wurden die Proben in nachstehender Weise vorbehandelt:

Probenvolumen V _P	200 ml
	+ 1 ml H ₂ SO ₄ (1N) zur Entfernung von Kohlensäure
	+ 1 ml NaOH (1N) zur Neutralisation
	+ 20 ml Phosphatpuffer (Merck) pH 6,88
	+ 2,5 ml ISA-Lösung zur Einstellung konstanter Ionenstärke

Endvolumen V_E 224,5 ml

Faktor zur Berechnung auf Nitrat [mg/l]: $f = 224,5/200 = 1,1225$

Meßbedingungen:

Alle Messungen wurden bei 20 °C durchgeführt.

a) Sensor

Bei allen Proben wurden die Absorptionsspektren im Durchfluß mit der in Abb. 3.5 gezeigten Meßanordnung aufgenommen, und der Nitratgehalt mit zuvor ermittelten Eichkurven bestimmt. Alle Messungen wurden bei 20 °C durchgeführt.

Durchflußrate: ca. 3 ml/Min.

b) nitratselektive Elektrode

Meßelektrode: EA 301 - NO₃ (Metrohm, CH-Herisau)
 Referenzelektrode: Silberchlorid-Halbzelle mit Zwischengefäß (Metrohm)
 Ag/AgCl (sat) / KCl (3 mol/l) // K₂ SO₄ (sat) // Analyt
 Meßgerät: pH-Meter (Metrohm, Modell 632)

Für die gleichzeitige kontinuierliche Nitratbestimmung mit der Optode und der nitratselektiven Elektrode wurde eine zweite Durchflußzelle hinter die Durchflußzelle für den Sensor angebracht (Abb. 3.6).

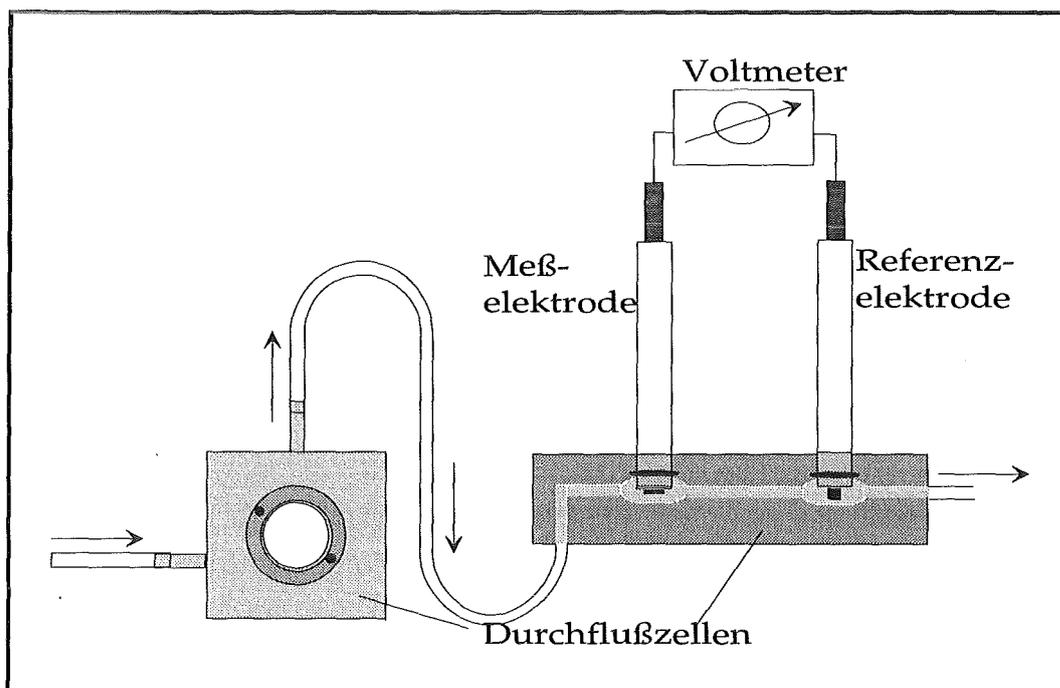


Abb. 3.6: Meßanordnung zur gleichzeitigen Analyse mit Sensor und Elektrode

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 ORIENTIERENDE EXPERIMENTE ZUR AUSWAHL GEEIGNETER CHROMOIONOPHORE

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines optischen Nitratsensors durch Kombination eines Flüssigionentauschers (Ni[bphen]₃-Salz) mit einem pH-Indikator als Chromoionophor in einer hydrophoben Polymermembran. Eine solche Optode müßte nach dem Prinzip des Cotransports (vgl. Kap. 2.2) aufgebaut sein. Wenn das durch den Phasendurchtritt von Nitrationen in der Membran entstehende Potential durch Coextraktion von Protonen aus der wässrigen Lösung kompensiert wird, korreliert die Nitratkonzentration in der wässrigen Lösung mit der Protonenkonzentration in der Membran und wird spektroskopisch über die Protonierung des Indikatoranions bestimmbar.

Da pH-Indikatoren wasserlöslich sind, können sie in der Regel nicht direkt zur Herstellung ionensensitiver Schichten auf Basis von PVC-Membranen verwendet werden. Der Chromoionophor muß, wie alle anderen Membrankomponenten, eine ausreichend hohe Lipophilie aufweisen, um bei Kontakt mit der wässrigen Phase nicht aus der Membran ausgetragen zu werden. Die Stabilität des Sensorsystems wird durch irreversible Änderungen der Membranzusammensetzung begrenzt. Aus diesem Grund werden die pH-Indikatoren normalerweise kovalent in die sensitive Schicht gebunden oder durch Derivatisierung lipophilisiert [39].

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, pH-Indikatoren durch Ionenpaarbildung in einer Polymermembran zu immobilisieren. Abb. 4.1 zeigt die Molekülstrukturen und Absorptionsspektren von Bromkresolpurpur (BKP) und Bromphenolblau (BPB) in Abhängigkeit vom pH-Wert [40]. Diese Farbstoffe weisen eine Sulfonsäuregruppe und eine phenolische Gruppe auf. Sulfonsäuren sind in ihrer Säurestärke den Mineralsäuren vergleichbar, weshalb die Indikatoren nur bei pH-Werten < 2 in neutraler Form (**I**, **Ia**) vorliegen. Analytisch genutzt wird die Farbänderung bei Deprotonierung der phenolischen Gruppe des chinoiden Anions (**II**) bzw. Protonierung des divalenten Chinon-Phenolat-Anions (**III**). Um den Zusammenhang zwischen pH-Wert der wässrigen Phase und dem Protonierungsgrad der immobilisierten Indikatoren zu überprüfen, wurden Bromkresolpurpur, mit einem Umschlagsbereich von pH 5,2 - 6,8 ($pK_s \sim 6,1$), und Bromphenolblau (Umschlagsbereich pH 3,0 - 4,6; $pK_s \sim 3,9$) ausgewählt.

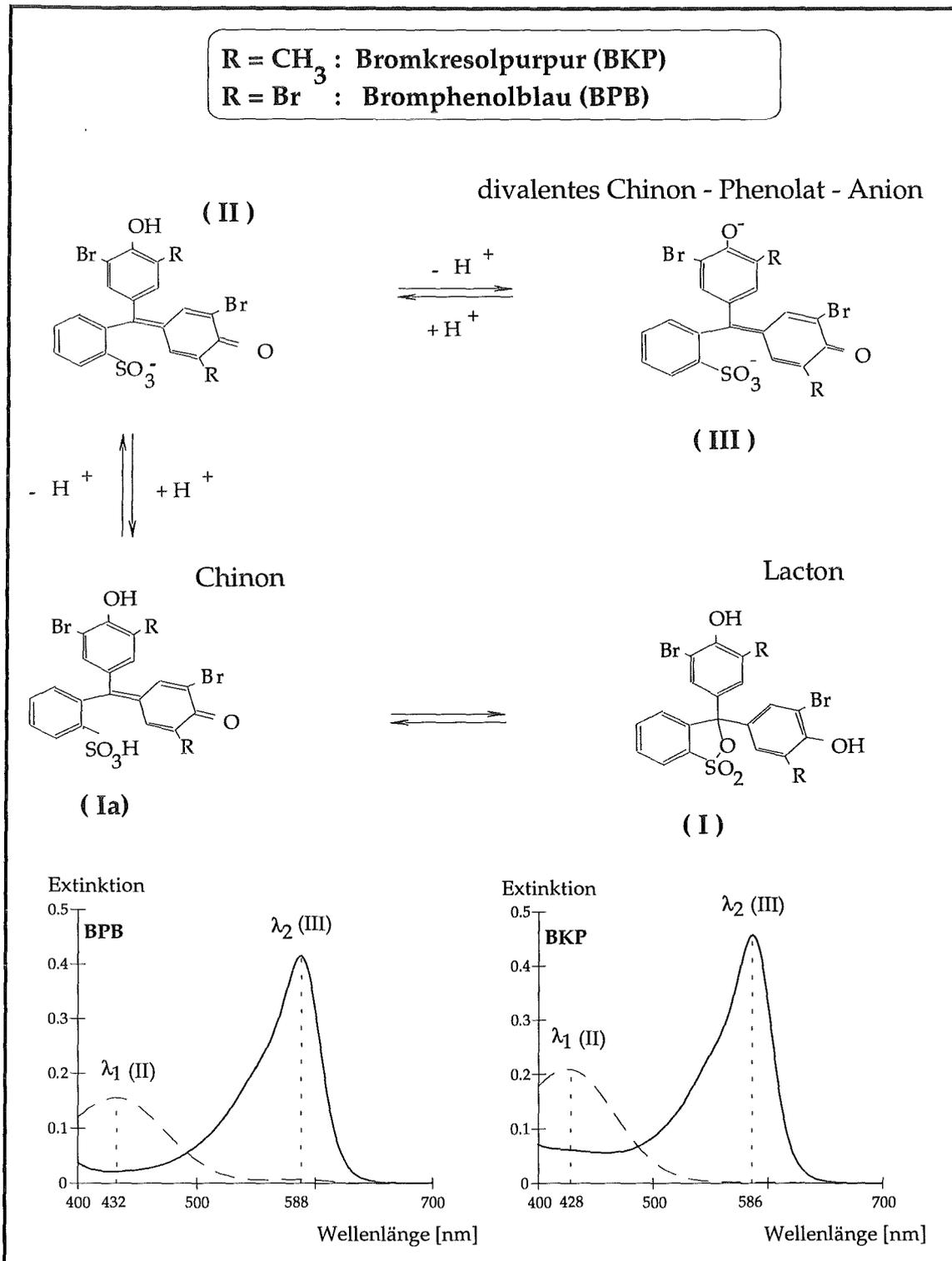


Abb. 4.1: Molekülstruktur [40] und Absorptionsspektren von Phenolsulfonphthalein-Indikatoren in Abhängigkeit vom pH-Wert

Die Indikatoren wurden in Phosphatpuffer pH 6,9 gelöst. Die Einstellung auf pH 2 erfolgte mit 1 M HCl. λ_1 und λ_2 bezeichnen die Absorptionsmaxima der protonierten (II) und deprotonierten (III) Form.
 — pH 6,9; pH 2

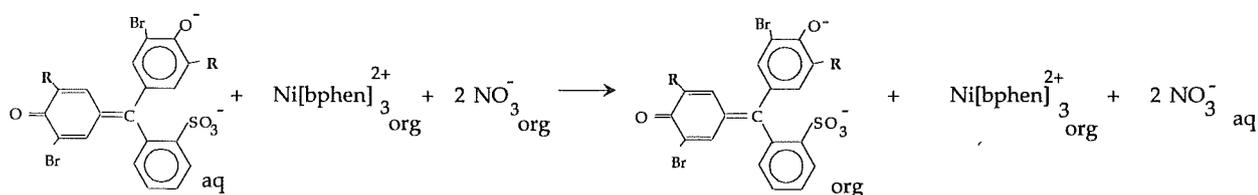
Es ist zu erwarten, daß die großen lipophilen Anionen dieser Farbstoffe (II, III in Abb. 4.1) mit $\text{Ni}[\text{bphen}]_3^{2+}$ als Gegenion in ein organisches Lösemittel extrahiert werden [30]. Die Indikatoranionen werden aufgrund der elektrostatischen Wechselwirkungen mit dem positiv geladenen Anionentauscher in dem lipophilen Medium festgehalten.

Die Verwendbarkeit der Chromoionophore wurde zunächst anhand von Messungen in Lösung überprüft. Im Hinblick auf den Einsatz von PVC als Polymermatrix, wurden die Vorversuche in Dichlormethan durchgeführt.

4.1.1 Extraktionsversuche zur Farbstoffimmobilisierung

Um den Einfluß des anionenselektiven Flüssigionentauschers ($\text{Ni}[\text{bphen}]_3(\text{NO}_3)_2$ gelöst in 2-Nitro-p-cymol) auf die Extrahierbarkeit der Indikatoren zu untersuchen, wurden wässrige Farbstofflösungen mit einer Lösung des Flüssigionentauschers (Orion 92-07-02) in Dichlormethan bzw. mit Dichlormethan ausgeschüttelt. Es zeigte sich, daß bei Anwesenheit des Ionentauschers die Farbstoffe vollständig in die organische Phase extrahiert werden, während bei Extraktion mit reinem Lösungsmittel die wässrige Phase intensiv gefärbt blieb. In einem weiteren Versuch wurde die organische Farbstoff-Ionentauscher-Lösung mit Puffer pH 6,9 gewaschen. Die wässrige Lösung blieb ungefärbt, d.h. es findet keine Rückextraktion von Farbstoffanionen aus der organischen Lösung statt.

In wässriger gepufferter Lösung (pH 6,9) liegen beide Farbstoffe als divalente Chinon-Phenolat-Anionen (III in Abb. 4.1) vor [41]. Wie erwartet, werden die großen lipophilen Anionen aus der wässrigen Lösung gegen Nitrationen aus der organischen Phase getauscht. Die Extraktion kann wie folgt beschrieben werden:



aq = wässrige Phase

org = organische Phase (Flüssigionentauscher in Dichlormethan)

R = CH_3 : divalentes Anion von BKP

R = Br : divalentes Anion von BPB

Abb. 4.2 zeigt die Absorptionsspektren der extrahierten Farbstoffe. Beide Lösungen weisen Absorptionsbanden mit Maxima bei 606 nm (BKP) bzw. 604 nm (BPB), entsprechend

den divalenten Chinon-Phenolat-Anionen der Indikatoren auf. Zunächst ist festzustellen, daß die Absorptionsbanden im Vergleich zu Messungen in wässriger Lösung ($\lambda_{2 \text{ BKP}} = 586 \text{ nm}$, $\lambda_{2 \text{ BPB}} = 588 \text{ nm}$) zu höheren Wellenlängen verschoben sind. Absorptionen, denen elektronische Übergänge mit ausgeprägter Polaritätsänderung zugrunde liegen, sind stark solvensabhängig, wie am Beispiel des aromatischen Ketons Benzophenon untersucht wurde [42]. Beim Übergang von polaren zu unpolaren Lösungsmitteln verschiebt sich die langwellige Absorptionsbande der Carbonylgruppe zu höheren Wellenlängen (bathochrom), während die kurzwellige Bande zu niedrigeren Wellenlängen verschoben wird (hypsochromer Shift). Diese Verschiebungen konnten bei beiden Farbstoffspektren in Dichlormethan beobachtet werden.

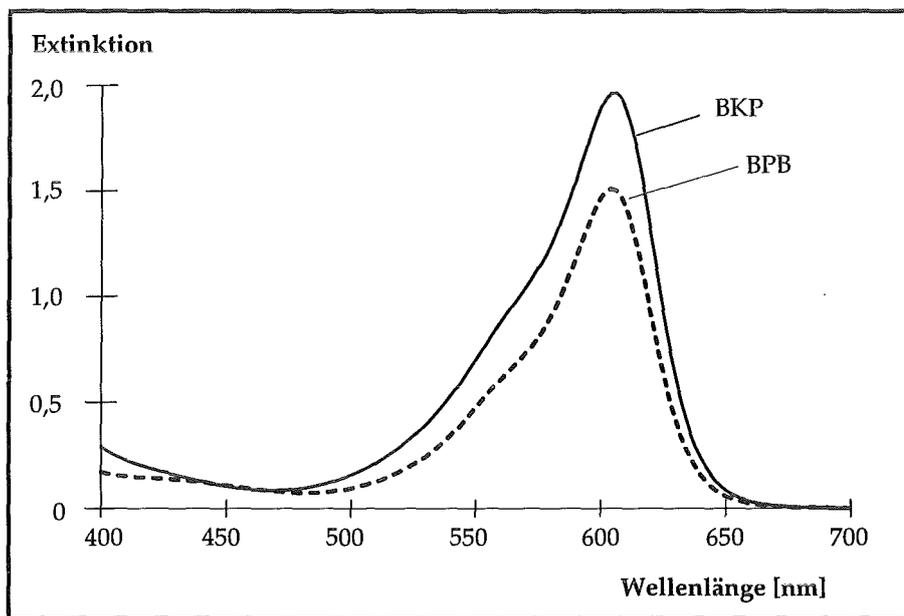


Abb. 4.2: Absorptionsspektren der extrahierten Farbstoffe in CH_2Cl_2

BKP = Bromkresolpurpur; BPB = Bromphenolblau. Die Spektren wurden gegen die Ionentauscherlösung als Blindwert aufgenommen.

Diese Vorversuche zur Immobilisierung zeigen, daß die Farbstoffanionen von Bromkresolpurpur und Bromphenolblau mit $\text{Ni}[\text{bphen}]_3^{2+}$ in ein mit Wasser nicht mischbares Lösungsmittel extrahiert werden können. Zur Herstellung nitratsensitiver Schichten sollte es deshalb möglich sein, diese Indikatoren mit $\text{Ni}[\text{bphen}]_3^{2+}$ als Gegenion in einer Polymermatrix zu immobilisieren.

4.1.2 Spektralphotometrischer reversibler Nachweis von Nitrationen durch Flüssigextraktion

Bei den nachfolgenden Extraktionsversuchen wurde eine nitratsensitive Schicht durch Lösungen von Farbstoff und Flüssigionentauscher in Dichlormethan simuliert. Aliquote dieser Reagenslösung wurden mit wässrigen Nitratlösungen (pH 6,9) ausgeschüttelt, und die organischen Phasen spektralphotometrisch untersucht. Da nach der Trinkwasserverordnung [9] die Nitratkonzentration in Trinkwasser 50 mg/l nicht überschreiten darf, wurden für die Bestimmung Probenlösungen im Bereich von 10 mg Nitrat/l bis 100 mg Nitrat/l verwendet.

Ziel der Vorversuche war, die Eignung des Coextraktionssystems $\text{Ni}[\text{bphen}]_3(\text{NO}_3)_2$ / BKP (bzw. BPB) für einen reversiblen optischen Nitratnachweis festzustellen.

4.1.2.1 Extraktionsversuche mit Bromkresolpurpur

Abb 4.3 zeigt die Absorptionsspektren von Bromkresolpurpur in Abhängigkeit von der Nitratkonzentration der Probenlösungen.

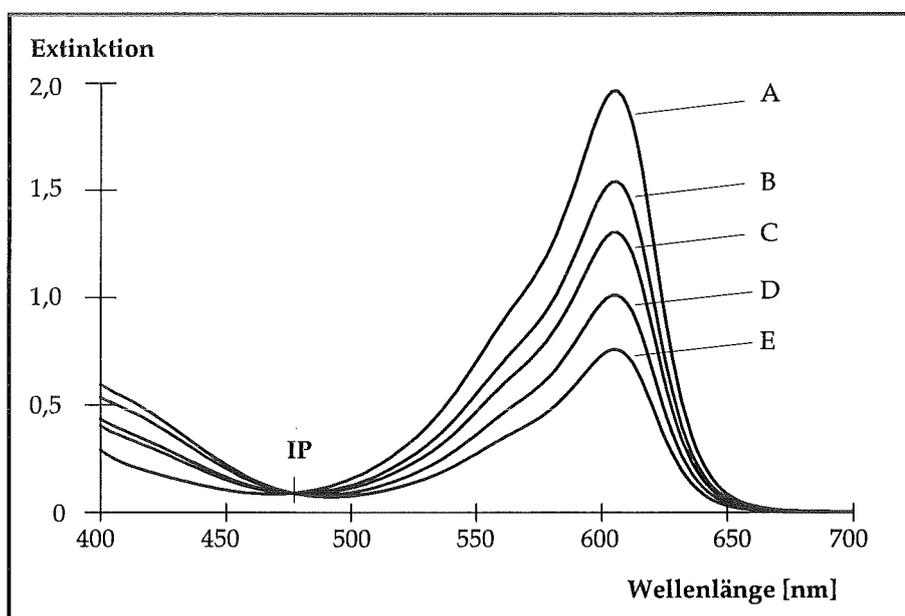


Abb. 4.3: Absorptionsspektren von BKP mit steigender Nitratkonzentration

Je 20 ml Nitrat-Standardlösung (pH 6,9) wurden mit 20 ml Reagenslösung extrahiert und gegen den Blindwert (Ionentauscherlösung) photometrisch untersucht.

A: 0 mg/l ; B: 10 mg/l ; C: 20 mg/l ; D: 50 mg/l ; E: 100 mg/l. IP = isosbestischer Punkt

Mit steigender Nitratkonzentration in der wässrigen Lösung nimmt die Absorptionsbande von BKP mit einem Maximum bei $\lambda = 606$ nm ab. Das durch den Phasenübertritt von Ni-

trationen entstehende Potential kann offensichtlich durch Coextraktion von Wasserstoffionen aus der wässrigen Lösung kompensiert werden, wodurch die Phenolatgruppen der divalenten Farbstoffanionen (III in Abb. 4.1) zunehmend protoniert werden. Die Änderung der Nitratkonzentration in der Probenlösung kann also indirekt über die Protonierung der Phenolatgruppe des Indikatoranions in der organischen Phase beobachtet werden.

Gleichzeitig korreliert die Absorptionsabnahme im langwelligen Bereich mit einer Extinktionszunahme bei kleineren Wellenlängen ($\lambda < 480$ nm). Die Farbstoffspektren werden im Wellenlängenbereich $\lambda < 430$ nm durch die starke Absorption des Lösungsmittels (2-Nitro-p-cymol) des Flüssigionentauschers überlagert. Um den Einfluß des Nitroaromaten auf die Absorptionsspektren auszuschalten, wurden die Spektren B, C, D, E von Spektrum A subtrahiert und in Abb. 4.4 die Extinktionsdifferenzen gegen die Wellenlängen aufgetragen. Es stellte sich heraus, daß alle Differenzspektren ein Minimum bei 408 nm aufweisen. Unter Berücksichtigung des hypsochromen Solvens-Effekts (vgl. Kap. 4.1.1) der kurzwelligen Absorptionsbande korreliert dieser Wert mit dem Extinktionsmaximum der protonierten Indikatoranionen (II in Abb. 4.1).

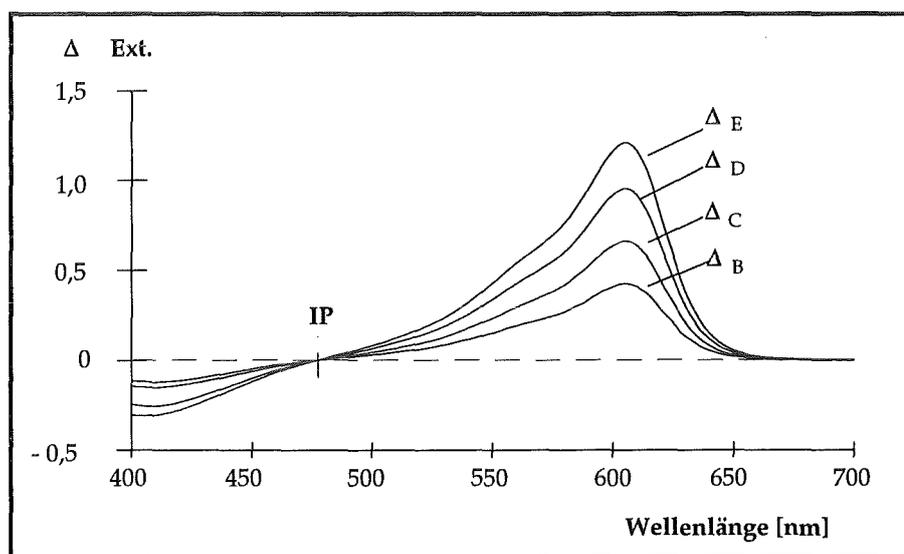


Abb. 4.4: Differenzspektren von Bromkresolpurpur

Um den Einfluß anderer absorbierender Spezies auszuschalten wurden die Spektren B, C, D, E (vgl. Abb. 4.2) von Spektrum A subtrahiert.

Δ_B : A - B; Δ_C = A - C; Δ_D = A - D; Δ_E = A - E; IP: isosbestischer Punkt

Bei $\lambda = 478$ nm schneiden sich alle Spektren, die Extinktionsdifferenz ist dort null. Das Auftreten eines isosbestischen Punktes zeigt die Einheitlichkeit der Reaktion an. Man kann dadurch ausschließen, daß die Reaktion über eine Zwischenstufe verläuft [43].

Zur Überprüfung der Reversibilität der Extraktion wurden Aliquote der organischen Reagenslösungen (A bis E in Abb. 4.3) mit Pufferlösung pH 6,9 rückextrahiert und spektralphotometrisch untersucht.

Nach der Rückextraktion zeigen alle Lösungen nahezu identische Spektren. In Abb. 4.5 sind aus Gründen der Übersichtlichkeit nur die Absorptionsspektren der Rückextrakte von Ansatz A und E eingezeichnet.

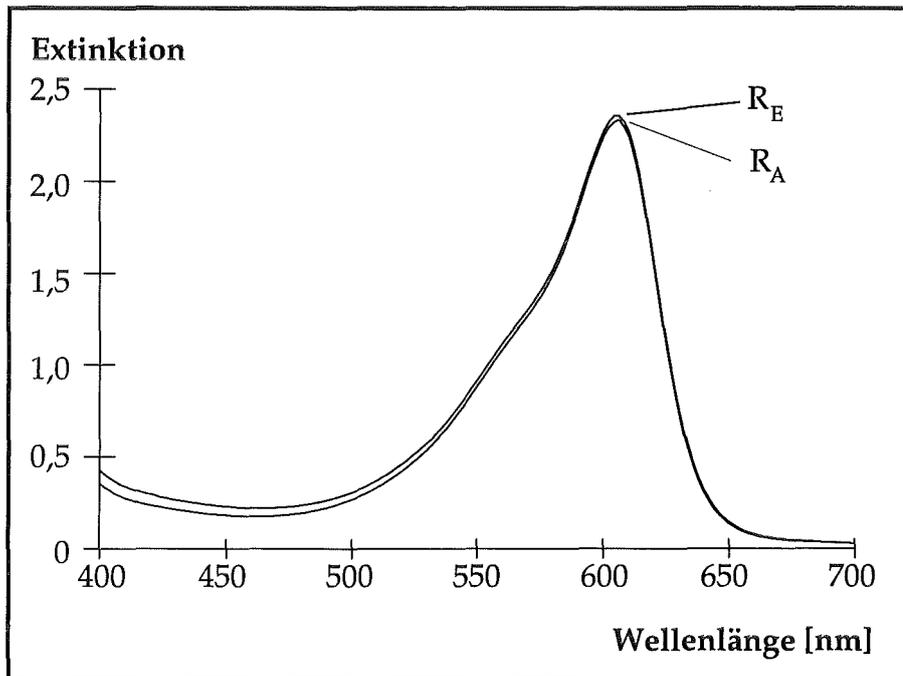


Abb. 4.5: Reversibilitätsprüfung der Nachweisreaktion

Aliquote der Reagenslösungen (A-E in Abb. 4.3) wurden mit Pufferlösung pH 6,9 extrahiert und spektralphotometrisch untersucht.

R_A = Rückextrakt des Ansatzes A (0 mg Nitrat/l)

R_E = Rückextrakt des Ansatzes E (100 mg Nitrat/l)

Durch Deprotonierung der chinoiden Anionen (II in Abb. 4.1) bildet sich die Absorptionsbande mit Maximum bei $\lambda = 408$ nm zurück, während die Bande mit Maximum bei $\lambda = 606$ nm durch Bildung der divalenten Indikatoranionen wieder aufwächst. Die höheren Extinktionswerte von R_E bei Wellenlängen von $\lambda < 580$ nm sind auf Trübung der organischen Phase durch Wasser zurückzuführen.

Die reversible Coextraktion von Nitrationen und Protonen in Abhängigkeit von der Nitratkonzentration der wässrigen Probelösung mit konstantem pH-Wert konnte somit bestätigt werden.

4.1.2.2 Extraktionsversuche mit Bromphenolblau

Zum Vergleich wurde die Versuchsreihe mit Bromphenolblau bei pH 6,9 wiederholt. Der pK_s -Wert von BPB liegt um etwa zwei pH-Einheiten unter dem von BKP. Es ist zu erwarten, daß bei einer direkten Abhängigkeit zwischen Protonierungsgrad des Indikators im Lösemittel und pH-Wert der wässrigen Lösung, die Empfindlichkeit dieses Systems wesentlich geringer ist als bei Verwendung von BKP.

Nach der Extraktion waren alle organischen Reagenzlösungen unverändert intensiv blau gefärbt, entsprechend der Absorptionsbande des deprotonierten Indikatoranions. Es erfolgte kein Cotransport von Protonen in die organische Phase. Ein Nitratnachweis mit Bromphenolblau bei pH 6,9 der wässrigen Lösungen ist folglich nicht möglich.

Der Übergang von Protonen zwischen den Phasen hängt vom Potential der Wasserstoffionen in wässriger und organischer Phase ab. Die Nachweisreaktion sollte bei $pH = pK_s$ gelingen.

Deshalb wurden die Nitratlösungen mit Phosphorsäure (3 M) auf pH 4,5 eingestellt und die Versuchsreihe wiederholt. Abb. 4.6 zeigt die Absorptionsspektren von Bromphenolblau in Abhängigkeit von der Nitratkonzentration.

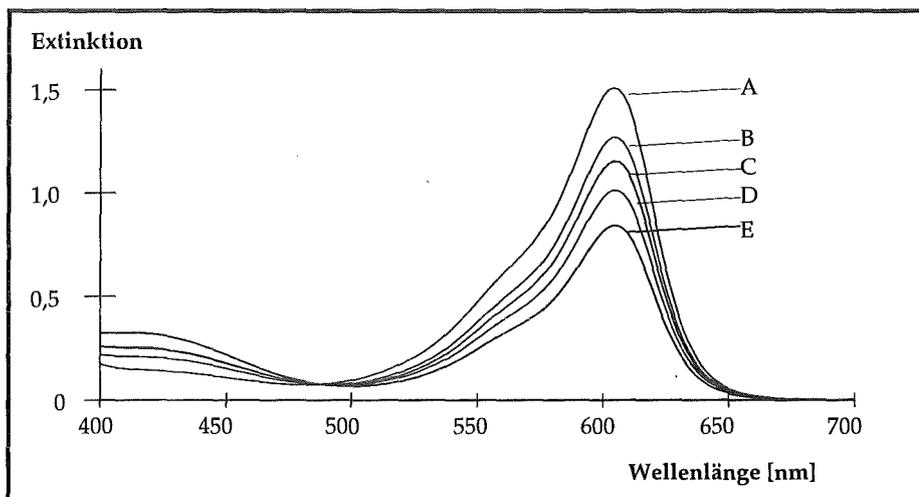


Abb. 4.6: Absorptionsspektren von BPB mit steigender Nitratkonzentration

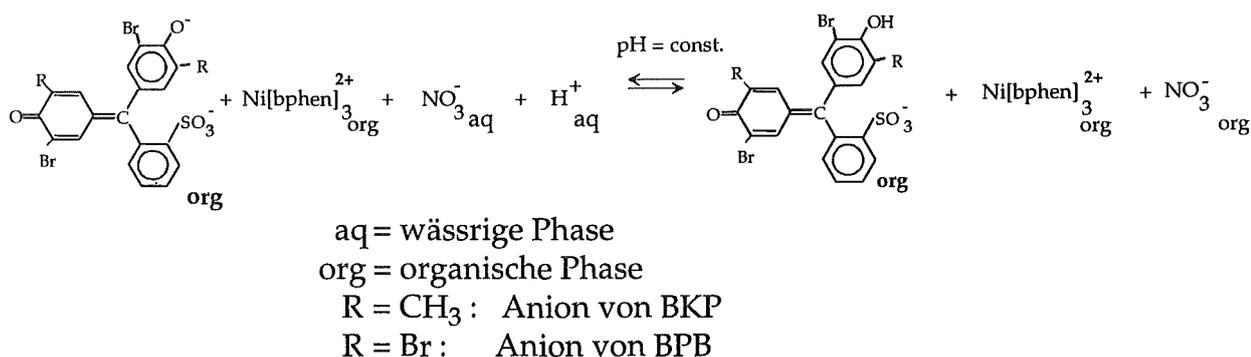
Je 20 ml Nitrat-Standardlösung (pH 4,5) wurden mit 20 ml Reagenzlösung extrahiert und gegen den Blindwert (Ionentauscherlösung) photometrisch gemessen.
Nitratkonzentration [mg/l]: A: 0; B: 10 ; C: 20; D: 50; E:100

Analog zu den Versuchen mit Bromkresolpurpur bei pH 6,9 nimmt mit steigender Nitratkonzentration der wässrigen Lösung die Absorptionsbande mit Maximum bei $\lambda = 604$ nm ab. Das Signal zeigt eine gleichsinnige Abhängigkeit; die Nitratkonzentration der wässrigen Lösung kann über die Extinktionsabnahme von BPB bei 604 nm bestimmt werden.

Dieses Experiment bestätigt die pH - Abhängigkeit der Reaktion. Die Auswahl der Chromoionophore muß deshalb anhand des jeweiligen pH-Werts erfolgen, bei dem die Nachweisreaktion durchgeführt werden soll.

Als Ergebnis dieser Vorversuche ist festzuhalten, daß Phenolsulfonphtaleinfarbstoffe wie Bromkresolpurpur und Bromphenolblau mit einem Flüssigionentauscher ($\text{Ni}[\text{bphen}]_3(\text{NO}_3)_2$ in 2-Nitro-p-cymol) als Ionenpaare in einem lipophilen organischen Medium immobilisiert werden können. Zur Herstellung nitratsensitiver Schichten sollte es deshalb möglich sein, diese Indikatoren mit $\text{Ni}[\text{bphen}]_3^{2+}$ als Gegenion in einer Polymermatrix zu immobilisieren.

Der optische, reversible Nitratnachweis auf Basis eines Cotransports von Nitrationen und Protonen gelingt. Die Coextraktion kann durch folgende Reaktionsgleichung ausgedrückt werden:



Die Bestimmung der Anionenaktivität muß bei konstantem pH-Wert durchgeführt werden, da die Chromoionophore als pH-Indikatoren protonenselektiv sind. Durch Auswahl geeigneter Indikatoren ist es möglich, die Nitratbestimmung gemäß dem pH-Wert der Probenlösungen durchzuführen.

4.2 ORIENTIERENDE EXPERIMENTE ZUR AUSWAHL DER SENSOR-KOMPONENTEN

4.2.1 Auswahl der Polymermatrix

Die Auswahl der Polymermatrix muß unter folgenden Gesichtspunkten getroffen werden: Das Polymer dient als Gerüstmatrix, in der die Membrankomponenten eingeschlossen sind, darf aber selbst die Austauschreaktion nicht beeinflussen. Die Durchführung von Absorptionsmessungen setzt voraus, daß die Polymermatrix transparent ist und im vorgegebenen Wellenlängenbereich keine Eigenabsorption aufweist. Das Polymer muß gegenüber der Analytlösung eine genügend gute mechanische und chemische Stabilität aufweisen. Im Gegensatz zu den Elektroden wird nicht das sich einstellende Gleichgewichtspotential an der Phasengrenzfläche bestimmt, sondern es findet eine Extraktion der Anionen und Kationen in die Membran statt. Die Ansprechzeit des optischen Sensors hängt also entscheidend von der Dicke der sensitiven Schicht ab. Die Herstellung dünner Schichten ist möglich, wenn das Polymer in einem Lösungsmittel mit niedrigem Dampfdruck löslich ist.

In Vorversuchen wurden verschiedene Polymere als Immobilisierungsmatrix getestet. Zur Erprobung als Sensormaterial wurden die Polymere und Bromkresolpurpur in THF gelöst, mit Flüssigionentauscher homogen vermischt und Aliquote dieser Mischung zur Sensorherstellung nach Methode I (gegossene Membranen) verwendet. Die erhaltenen Schichten wurden bezüglich Transparenz, Sensitivität, Ansprechzeit und Signalstabilität miteinander verglichen (Tab. 4.1).

Tab. 4.1 Vergleich einiger Polymere als Sensormatrix

Polymer	Transparenz	Sensitivität	Ansprechzeit	Signalstabilität
Polyvinylchlorid	+	+	+	+/-
Polychlorstyrol	+	+/-	+	-
Polyvinylacetat	+	-	-	++
Nitrocellulose	+	-	-	

Als Immobilisierungsmatrix wurde Polyvinylchlorid (PVC) gewählt, das auch zur Herstellung ionenselektiver Polymermembranen verwendet wird [25-27]. Mit diesem Polymer hergestellte Sensoren sprechen empfindlich und mit kurzer Ansprechzeit (ca. 20 Minuten) auf Nitrationen in der Meßlösung an.

4.2.2 Auswahl des Weichmachers

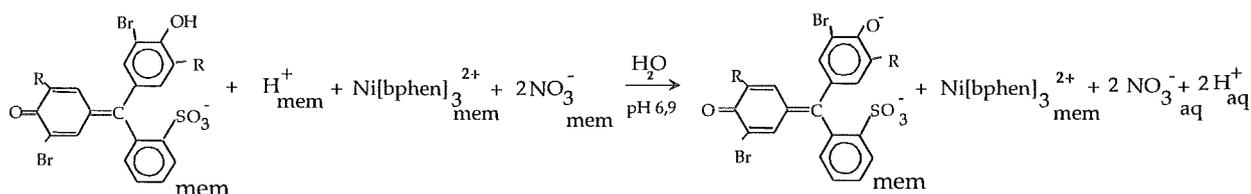
Die "Flüssig"-Polymermembran stellt eine Lösung der membranaktiven Substanzen in einer Polymermatrix dar. Das Lösungsmittel (Weichmacher) muß mit den Membrankomponenten eine homogene Lösung in der inerten Polymermatrix bilden, um transparente Schichten zu erhalten. Es sorgt durch seine plastifizierende Eigenschaft für die freie Beweglichkeit der Rezeptormoleküle in der Membran, was sich auf die Ansprechzeit auswirkt. Die Dielektrizitätskonstante übt einen Einfluß auf den Dissoziationsgrad der Membrankomponenten aus, wodurch die Selektivität des Sensors entscheidend beeinflusst wird (vgl. Kap. 2.2.2).

Primäre Voraussetzungen für die Stabilität der Sensorschicht sind niedriger Dampfdruck des Weichmachers und Nichtmischbarkeit mit Wasser. Für die Extraktionsversuche in Dichlormethan wurde als Flüssigionentauscher $\text{Ni}[\text{bphen}]_3(\text{NO}_3)_2$ in 2-Nitro-p-cymol verwendet.

Untersuchungen über den Einfluß des Lösungsmittels auf die Eigenschaften nitratselektiver Membranelektroden haben gezeigt, daß mit 2-Nitro-p-cymol als Mediator hergestellte Polymermembranen nur geringe Stabilität aufweisen, was wahrscheinlich auf die Segregation der Membrankomponenten zurückzuführen ist [44]. Membranen mit 2-Nitrophenyl-octylether als Lösungsmittel weisen dagegen sowohl größere Langzeitstabilität als auch bessere mechanische Eigenschaften auf.

Gebräuchliche Weichmacher zur Herstellung von Polymermembranelektroden [45] sind neben den Nitroaromaten (Dielektrizitätskonstanten $\epsilon > 15$) auch Diester von Dicarbonsäuren ($\epsilon < 10$). Um den Einfluß des Weichmachers auf die Sensoreigenschaften zu überprüfen, wurden PVC-Membranen mit Bis(2-ethyl-hexyl)-sebacat (DOS) und 2-Nitrophenyl-octylether (NPOE) als Lösemittel hergestellt.

Beide Membranen waren grün-gelb gefärbt. Der Indikator liegt nur teilweise als divalentes Anion vor. Deshalb wurden die Sensoren in einer wässrigen Pufferlösung (pH 6,9) konditioniert, um nitratsensitive Schichten zu erhalten. Aufgrund des Aktivitätsunterschiedes der Nitrationen in beiden Phasen werden die Nitrationen des $\text{Ni}[\text{bphen}]$ -Salzes zusammen mit Protonen des Farbstoffes in die wässrige Lösung extrahiert, während die lipophileren größeren Anionen von Bromkresolpurpur als Gegenionen in der Membran verbleiben. Die Konditionierung kann durch folgende Gleichung beschrieben werden:



mem = Membranphase

aq = wässrige Phase

Beide Membranen färbten sich in Pufferlösung blau. Während bei dem mit NPOE hergestellten Sensor die Konditionierung nach etwa 30 Minuten abgeschlossen war, benötigte der mit DOS hergestellte Sensor über 5 Stunden bis er ein konstantes Signal zeigte.

Nach der Konditionierung wurden die Membranen auf ihre Nitratsensitivität untersucht. Zunächst war festzustellen, daß die Absorptionsbanden der deprotonierten Indikatoranionen bei den PVC-Membranen, im Vergleich zu Messungen in Dichlormethan, zu höheren Wellenlängen verschoben sind. Beide Sensoren weisen ein Extinktionsmaximum bei 612 nm auf. Ob diese bathochrome Verschiebung allein auf Solvenseffekte (vgl. Kap. 4.1.1) beruht, oder auch durch die räumliche Anordnung der Farbstoffmoleküle durch die Immobilisierung [46] in der Polymermatrix beeinflusst wird, wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter untersucht. Abb. 4.7 zeigt die Absorptionsspektren des mit NPOE hergestellten Sensors in Abhängigkeit von der Nitratkonzentration bei pH 6,9.

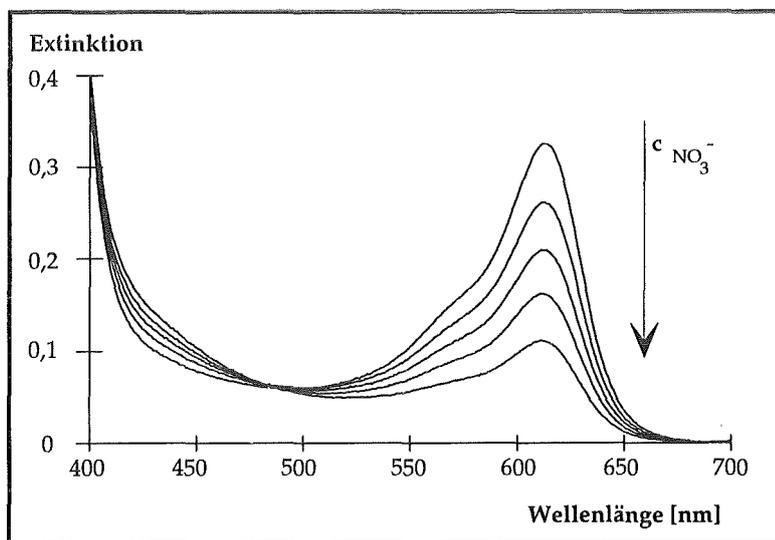


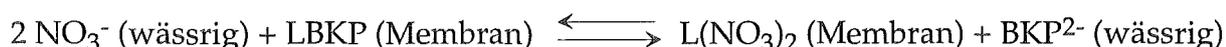
Abb. 4.7: Absorptionsspektren des PVC-Sensors mit Weichmacher NPOE und Indikator BKP mit steigender Nitratkonzentration

Der Sensor wurde in einer Meßküvette mit Lösungen verschiedener Nitratkonzentrationen geprüft. Die Spektren wurden nach Erreichen der Signalkonstanz bei 612 nm (ca. 20 min) aufgenommen. Die Nitratkonzentrationen betragen 0; 0,1; 0,5; 1 und 2 mmol/l. (1 mmol NO_3^- = 62 mg NO_3^-)

Der mit NPOE hergestellte Sensor ist nitratsensitiv und zeigt die gleiche Abhängigkeit wie bei den Messungen in Lösung. Mit steigender Nitratkonzentration in der wässrigen Lösung nimmt die Absorptionsbande mit Maximum bei $\lambda = 612$ nm ab. Eine photometrische Nitratbestimmung ist mit solchen Sensoren möglich.

Der mit DOS hergestellte Sensor zeigte nach Kontakt mit den Nitratlösungen keine spektrale Veränderung, d.h. es findet innerhalb der Meßzeit kein Cotransport von Nitrationen und Protonen in die mit diesem Weichmacher hergestellte Membran statt.

Wie schon in Abschnitt 2.2.2 beschrieben, beeinflussen die Eigenschaften des Weichmachers die Selektivitätseigenschaften bei ionenselektiven Membranelektroden mit Flüssigionentauschern. Werden Lösungsmittel mit Dielektrizitätskonstanten $\epsilon > 10$, wie NPOE, mit Übergangsmetallkomplexen kombiniert, liegen die Ionentauschermoleküle dissoziiert in der Membran vor, während bei Verwendung von Lösemitteln mit Dielektrizitätskonstanten $\epsilon < 10$ die Bildung von Ionenassoziaten bevorzugt ist. Die Selektivität hängt in diesem Fall entscheidend von der Gleichgewichtskonstanten folgender Ionenaustauschreaktion ab:



LBKP = Ionentauscher-Bromkresolpurpur-Assoziat

$\text{L}(\text{NO}_3)_2$ = Ionentauscher-Nitrat-Assoziat

BKP^{2-} = deprotoniertes BKP-Anion

Da der Ionentauscher im vorliegenden Fall mit dem lipophilen, leicht polarisierbaren Indikatoranion stabilere Ionenassoziate bildet als mit Nitrationen, ist das Gleichgewicht auf die linke Seite verschoben. Der mit DOS hergestellte Sensor zeigt keine Nitratsensitivität.

Als Ergebnis dieser Experimente ist festzuhalten, daß durch Kombination eines Flüssigionentauschers mit Bromkresolpurpur und 2-Nitrophenyl-octylether (NPOE) eine nitrat-sensitive PVC-Membran auf dem Prinzip eines Cotransports hergestellt werden kann.

Es wurde gezeigt, daß die Wahl des Weichmachers einen entscheidenden Einfluß auf die Eigenschaften der sensitiven Schicht ausübt. Bei Verwendung von Bis(2-ethyl-hexyl)-sebacat (DOS) als Mediator zeigten die Polymermembranen keine Nitratsensitivität.

4.3 MESSUNG MIT GEGOSSENEN SENSOREN

Als Weichmacher zur Herstellung langzeitstabiler PVC-Membranen wurde NPOE ausgewählt. Dazu wurde der nitratselektive Ionophor $\text{Ni}[\text{bphen}]_3(\text{NO}_3)_2$ direkt in NPOE synthetisiert. So konnten Optoden mit größerer Sensitivität durch einen höheren Ionophorgehalt in der Membran erzielt werden.

Die Optode spricht wie die ionenselektive Elektrode (vgl. Kap. 2.1.3.4) auf die Ionenaktivität an. Die Ionenstärke aller Meßlösungen wurde mit einer Na_2SO_4 - Lösung fixiert. Der Unterschied der Gesamtionenstärken der verschiedenen Lösungen mit unterschiedlichen Meßionenkonzentrationen wird dadurch vernachlässigbar klein, so daß Konzentrationsbestimmungen durchgeführt werden können.

Das Polymer (PVC), der Flüssigionentauscher ($\text{Ni}[\text{bphen}]_3(\text{NO}_3)_2$ in NPOE) und der Chromoionophor (Bromkresolpurpur) wurden in THF gelöst, und Sensoren nach der bei ionenselektiven Elektroden bewährten Technik (Abb. 3.1) hergestellt.

Zur Durchführung kontinuierlicher Messungen wurden die Membranen in eine Durchflußküvette eingebracht. In Abb. 4.8 ist der zeitliche Verlauf der Hin- und Rückreaktion eines solchen Sensors dargestellt.

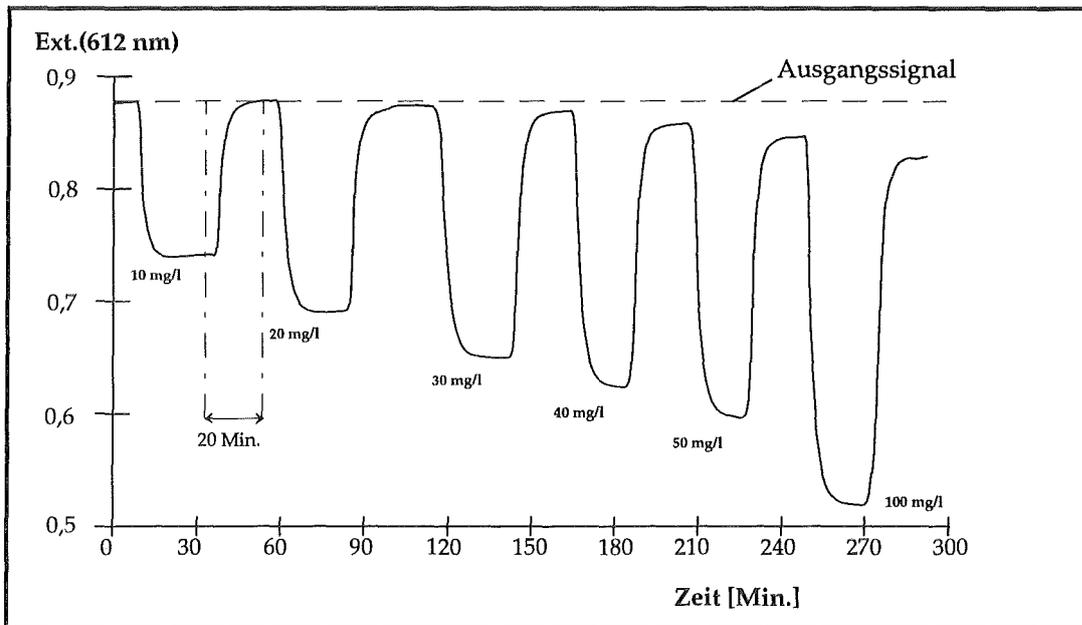


Abb. 4.8: Ansprechzeit und Reversibilität

Die Küvette wurde abwechselnd mit Pufferlösung (ohne Nitrat) und Nitratlösungen verschiedener Konzentration durchströmt. Die Ansprechzeiten für Hin- und Rückreaktion liegen im Bereich von 20 Minuten.

Der Sensor wurde abwechselnd mit Pufferlösung (ohne Nitrat) und Nitratlösungen (10 mg/l - 100 mg/l) geprüft und die Extinktionsänderung bei 612 nm beobachtet. Die Durchflußrate während der Messung betrug 3 ml/Min.

Wie aus Abb. 4.8 zu erkennen ist, zeigt der Sensor ein reversibles Ansprechverhalten in Abhängigkeit von der Nitratkonzentration. Die Ansprechzeiten für Hin- und Rückreaktion liegen im Bereich von 20 Minuten. Als Ansprechzeit (t_{99}) wird die Zeit bis zum Erreichen von 99% des konstanten Endsignals bezeichnet. Es ist festzustellen, daß nach Kontakt mit Meßlösungen von mehr als 10 mg/l Nitrat das Ausgangssignal nicht mehr erreicht wird. Dieser Effekt verstärkt sich mit steigender Nitratkonzentration der Probenlösungen.

Die Polymermembran stellt eine Lösung der Membrankomponenten in PVC dar. Von selektiven Membranelektroden auf Basis von Flüssigionentauschern ist bekannt, daß die Lebensdauer durch den Übergang des Flüssigionentauschers in die Meßlösung limitiert wird

[47, S. 119]. Im allgemeinen steigt die Löslichkeit des Ionentauschers in der Meßlösung mit steigender Analytioneinkonzentration in der Probe. Mit erhöhter Meßionenkonzentration besteht durch das Coextraktionssystem der Optode zusätzlich die Möglichkeit des Austauschs von Nitrationen gegen Farbstoffanionen.

Abb. 4.9 zeigt das Extinktionsabnahme eines Sensors in Pufferlösung (ohne Nitrat) und in 1 mmol/l Nitratlösung (62 mg/l) über einen Zeitraum von 13 Stunden. Durch die vorbeiströmende wässrige Pufferlösung wird NPOE, und die darin gelösten Substanzen, langsam aus der sensitiven Schicht ausgetragen, was zu einer Signaldrift führt.

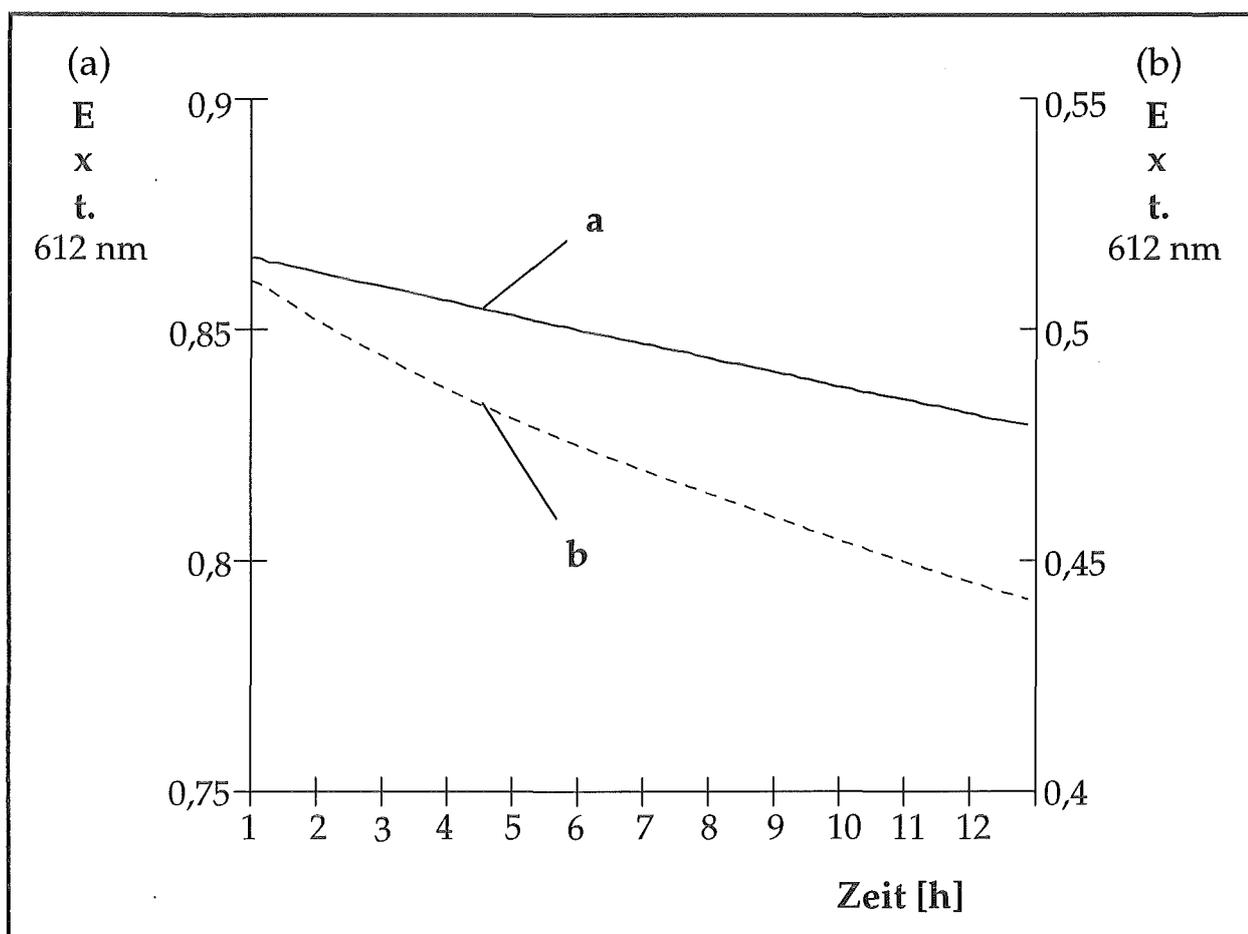


Abb. 4.9: Signaldrift

Zur Veranschaulichung wurden beide Messungen in ein Diagramm eingezeichnet. Die linke Extinktionsskala gilt für Kurve a.

a: Extinktionsabnahme in Pufferlösung ($5 \cdot 10^{-5}$ /Min.)

b: Extinktionsabnahme in 1 mmol/l Nitratlösung ($1 \cdot 10^{-4}$ /Min.)

Die Extinktionsabnahme während der dreizehnstündigen Messung in Puffer beträgt $5 \cdot 10^{-5}$ pro Minute. Die erhöhte Extinktionsabnahme ($1 \cdot 10^{-4}$ /Min.) bei Kontakt mit der Nitratlösung kann mit der erhöhten Löslichkeit der $\text{Ni}[\text{bphen}]_3^{2+}$ -Ionen, wodurch gleichzeitig Indikatoranionen aus der Membran ausgetragen werden, und dem Austausch von Indikator gegen Nitrationen erklärt werden.

Die Auswaschung der Membrankomponenten korreliert mit der Membranzusammensetzung. Bei Flüssigelektroden beträgt die Potentialdrift typischerweise 1 mV pro Tag, während für die korrespondierenden Polymermembranelektroden eine typische Drift von 1 mV/Woche angegeben wird [47, S. 118].

Demnach sollte es durch die Herstellung "dichterer" Polymermembranen, d.h. Erhöhung des PVC-Anteils relativ zum Anteil an Flüssigionentauscher, möglich werden, stabilere Sensoren zu erhalten. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß die Ansprechzeit neben der Schichtdicke auch von der zunehmenden Abschirmung des Flüssigionentauschers durch die Polymermatrix abhängt. Zur Optimierung der Sensoreigenschaften muß demnach ein Kompromiß zwischen Langzeitstabilität und Ansprechzeit gefunden werden.

4.4 MESSUNG MIT DURCH AUFSCHEUDERN HERGESTELLTEN SENSOREN

Um stabilere Sensoren mit Ansprechzeiten im Minutenbereich zu erhalten, wurden dünnere Polymermembranen mit höherem PVC-Anteil hergestellt. Zur Herstellung sehr dünner homogener Schichten ist die Gießmethode nicht geeignet: Die Membranzmischung zieht an den Rändern des Glasringes hoch, wodurch sich ein Meniskus an der Flüssigkeitsoberfläche ausbildet. Deshalb weisen gegossene Membranen keine homogenen Schichtdicken auf und sind nicht reproduzierbar herzustellen.

Durch Beschichtung von rotierenden Plexiglasplättchen wurden Membranen von $\leq 10 \mu\text{m}$ Dicke reproduzierbar erzeugt. Als Problem erwies sich der geringe Farbstoffanteil in solchen dünnen Membranen. Erst durch Ionenpaarbildung mit dem schwach basischen Anionentauscher Amberlite LA-2 konnte die Farbstoffkonzentration in der Membran erhöht werden, wodurch dünne sensitive Schichten mit ausreichender Extinktion hergestellt werden konnten. Durch die Einführung zusätzlicher positiver Ankergruppen in die Membran sollte außerdem der Austausch von Farbstoffanionen gegen Nitrationen bei erhöhter Meßionenkonzentration verlangsamt werden, um die Stabilität der Sensoren zu erhöhen.

4.4.1 Ansprechzeit

Abb. 4.10 zeigt den zeitlichen Verlauf der Extinktionsänderung eines Sensors in Abhängigkeit von der Nitratkonzentration der Meßlösung bei konstantem pH Wert und konstanter Temperatur.

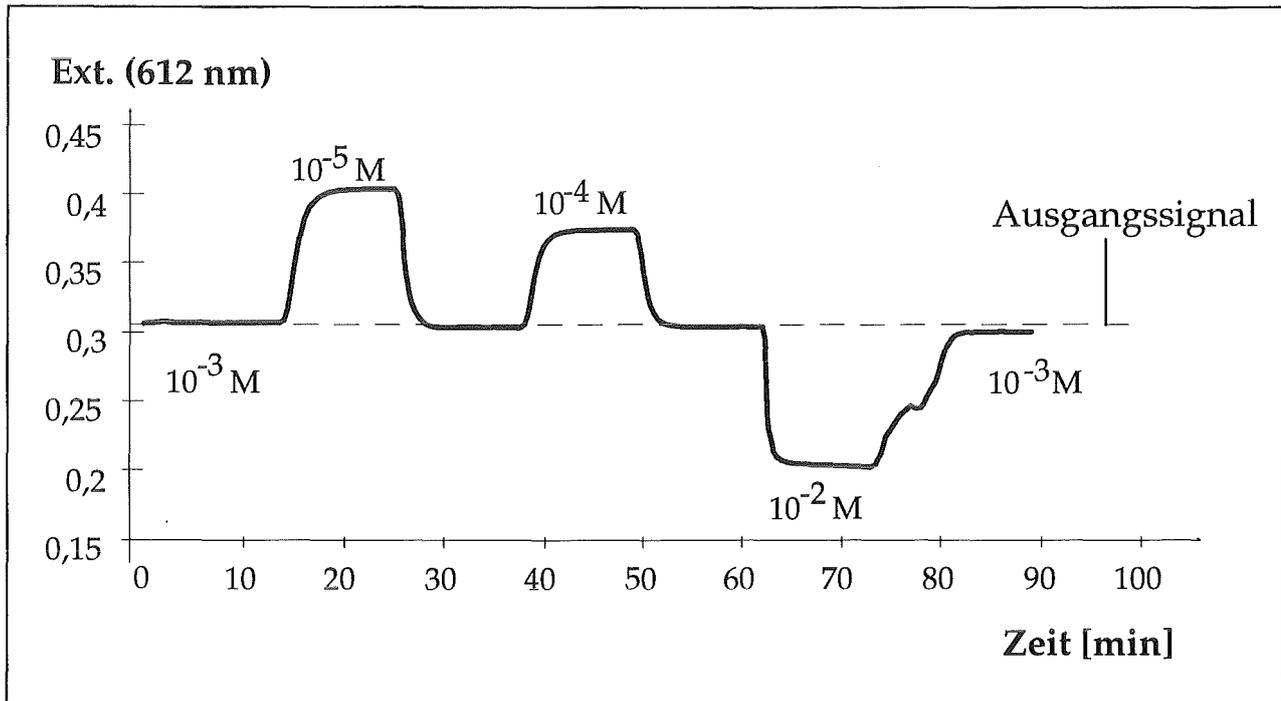


Abb. 4.10: Zeitlicher Verlauf des Sensorsignals mit wechselnder Nitratkonzentration
Nitratkonzentrationen: 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} und 10^{-2} mol/l (pH 6,9).

Der Sensor zeigt ein reversibles Ansprechverhalten. Erst nach Messung mit 10^{-2} M Nitratlösung (620 mg/l) kann eine deutliche Abweichung vom ursprünglichen Ausgangssignal innerhalb der Meßzeit beobachtet werden.

Gleichzeitig zeigt der Sensor aufgrund der geringeren Schichtdicke ein um etwa Faktor vier verbessertes Ansprechverhalten. Wie aus Abb. 4.11 zu sehen ist, beträgt die Ansprechzeit beim Übergang von höheren zu niederen Konzentrationen maximal 7 Minuten, während der t_{99} -Wert beim Übergang von niedrigeren zu höheren Konzentrationen in 5 Minuten erreicht wird. Auch die nitratselektive Elektrode zeigt beim Übergang von niederen zu hohen Messkonzentrationen kürzere Einstellzeiten als umgekehrt [48].

Dies bestärkt die Annahme, daß der Nitratnachweis, wie bei der nitratselektiven Elektrode, primär über den Ionentauscher erfolgt. Der optische Nachweis erfolgt sekundär über die Protonierung des Indikators (bei pH = const.). Beide Reaktionen sind miteinander gekoppelt. Für die mathematische Beschreibung der Relation zwischen Extinktion (612nm) und Nitratkonzentration in der Meßlösung müssen deshalb beide Reaktionen zugrunde gelegt werden. Es kann somit nicht die pH-Eichkurve des Indikators als Eichkurve für die Nitratoptode erwartet werden.

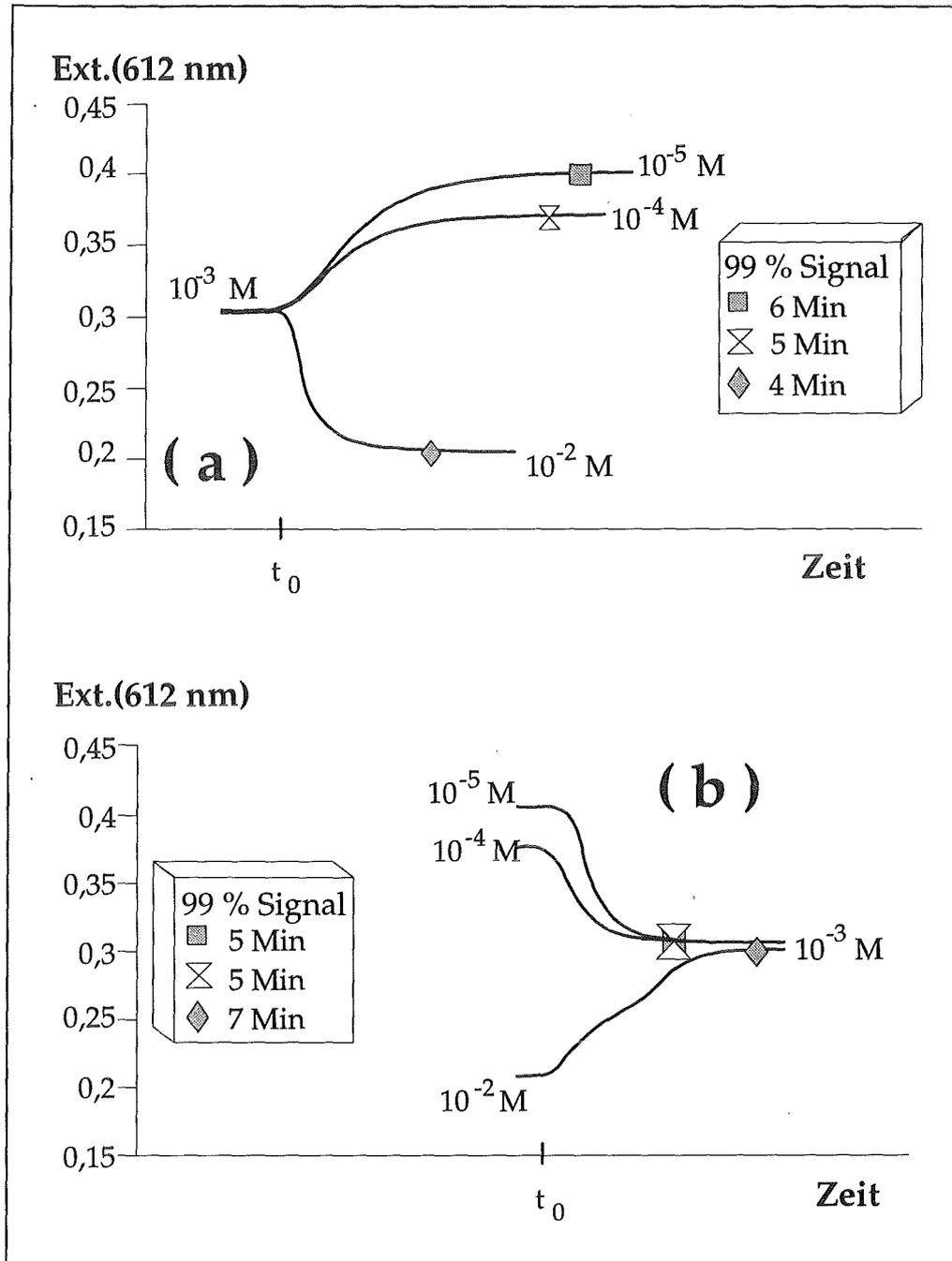


Abb. 4.11: Ansprechzeiten (t_{99}) in Abhängigkeit von der Nitratkonzentration

Der Sensor wurde abwechselnd mit 10^{-3} M Nitratlösung und Lösungen verschiedener Analytioneinkonzentration getestet. Die Ansprechzeit beträgt maximal 7 Minuten. Die Signaleinstellung erfolgt beim Übergang zu höheren Konzentrationen schneller als umgekehrt.

(a) Hinreaktion (b) Rückreaktion

4.4.2 Austragverhalten

Um den Einfluß der modifizierten Membranzusammensetzung auf die Signalstabilität zu untersuchen, wurde der zeitliche Signalverlauf von vier Sensoren aus einer Charge in Abhängigkeit von der Nitratkonzentration aufgezeichnet. Dazu wurde jeweils alle 6 Minuten die Signalamplitude (Ext._{612 nm}) bestimmt und über die gesamte Meßzeit aufgezeichnet. Die Abnahme der Signalamplitude wird jeweils durch die Steigung der Regressionsgeraden angegeben (Tab. 4.2). Die Berechnung der Geraden erfolgte über die Software des Spektralphotometers (UV/VIS operating software 89531A, Hewlett Packard).

Tab. 4.2: Austragverhalten mehrerer Sensoren aus einer Charge

Sensor	c _{Nitrat} [mg/l]	Durchflußrate [ml/Min.]	Meßdauer [Min.]	Signal drift (612 nm) [Min. ⁻¹]
A	0	3	900	2 · 10 ⁻⁵
	0	3	900	3 · 10 ⁻⁵
	0	3	900	2 · 10 ⁻⁵
B	0	3	1380	2 · 10 ⁻⁵
	50	3	960	4 · 10 ⁻⁵
C	0	3	1140	3 · 10 ⁻⁵
	20	3	1380	2 · 10 ⁻⁵
	100	3	1200	5 · 10 ⁻⁵
D	0	4	960	4 · 10 ⁻⁵
	0	4	1440	4 · 10 ⁻⁵
	20	4	960	4 · 10 ⁻⁵
	50	4	960	5 · 10 ⁻⁵
	100	4	540	9 · 10 ⁻⁵

c_{Nitrat} = Nitrationenkonzentration der Meßlösung

Durch Erhöhung des Polymeranteils und Zusatz des schwach basischen Anionentauschers konnte die Signalkonstanz der Sensoren deutlich verbessert werden. Bei einer Durchflußrate von 3 ml/Min. weisen diese Sensoren, sowohl in Pufferlösung als auch in Nitratlösung, gegenüber den gegossenen Sensoren (vgl. Abb. 4.9) eine Verbesserung um etwa den Faktor zwei auf. Erst ab Nitratkonzentrationen ≥ 50 mg/l (B, C) kann ein erhöhtes Austragverhalten beobachtet werden.

Wie bereits in Kap. 4.3 beschrieben, werden die Membrankomponenten durch die vorbeiströmende Meßlösung aus der sensitiven Schicht ausgewaschen. Um den Einfluß der Strömungsgeschwindigkeit zu untersuchen, wurden vergleichende Messungen mit erhöh-

ter Durchflußrate durchgeführt (Sensor D). Die Erhöhung der Durchflußrate von 3 auf 4 ml/Min bewirkt etwa eine Verdoppelung der Signaldrift. Die Stabilität der Sensoren wird also, wie bei der nitratselektiven Elektrode [47,48], in erster Linie durch Auswaschung der Membrankomponenten in die Meßlösung begrenzt.

Die folgende Berechnung schätzt den Einfluß der Drift auf das Meßsignal ab (Durchflußrate 3ml/Min.).

Beim Übergang der Meßionenkonzentration von 10^{-4} M (6,2 mg/l) auf 10^{-3} M (62 mg/l) resultiert eine Signaländerung von $\Delta \text{Ext}_{612\text{nm}} = 0,070$ in einem Meßintervall von 7 Minuten (siehe Abb. 4.11). Wird einer Meßlösung von 62 mg/l eine geschätzte Signaldrift (B, C in Tab. 4.2) von ca. $4 \cdot 10^{-5}$ /Min. zugrunde gelegt, resultiert innerhalb der Meßzeit eine Drift von

$$\Delta \text{Ext}_{\text{Drift}} = 4 \cdot 10^{-5} \cdot 7 = 0,0003$$

Die durch Drift verursachte Extinktionsänderung ist $< 0,5$ % bezogen auf die Gesamtsignaländerung und somit innerhalb der Meßzeit vernachlässigbar.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Sensoreigenschaften durch Zusatz eines schwach basischen Anionentauschers deutlich verbessert wurden. Durch Immobilisierung von Bromkresolpurpur mit LA-2 konnte die Farbstoffkonzentration in der Membran erhöht werden, wodurch es möglich wurde, dünne Schichten ($\leq 10 \mu\text{m}$) mit ausreichender Extinktion herzustellen. Die Ansprechzeiten t_{99} konnten so von 20 Minuten auf 7 Minuten verbessert werden.

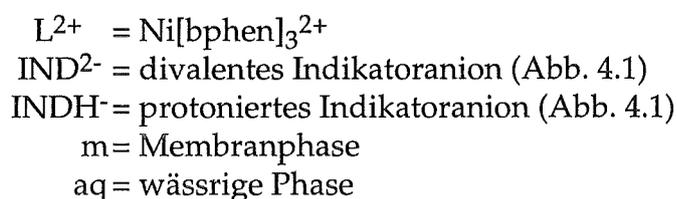
Durch Erhöhung des PVC-Anteils und Einführen von positiven Ankergruppen in die Membran wurde die Stabilität des Sensorsignals gleichzeitig um etwa Faktor 2 verbessert. Es wurde gezeigt, daß die Stabilität der Optode, wie bei der nitratselektiven Elektrode, in erster Linie durch Auswaschung von Membrankomponenten in die Meßlösung begrenzt ist. Bei Messungen im mittleren Konzentrationsbereich (ca. 50 mg Nitrat/l) ist die durch Drift verursachte Signaländerung $< 0,5$ % bezogen auf das Gesamtsignal. Bei kontinuierlichen Messungen über große Zeiträume und bei Bestimmung sehr kleiner Nitratkonzentrationen muß die Signaldrift jedoch entweder rechnerisch kompensiert werden, oder der Sensor in bestimmten Zeitabständen neu kalibriert werden.

4.4.3 Mathematische Beschreibung der Ansprechfunktion

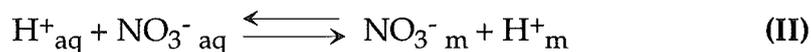
Wie in Kap. 4.4.1 erwähnt, erfolgt der Nitratsnachweis primär über den Nitrataustausch und sekundär über die Protonierung des Indikators. Für die mathematische Beschreibung der Relation zwischen Extinktion (612 nm) der Optode und Nitrataktivität in der Meßlösung sind deshalb beide Reaktionen zu berücksichtigen.

Der Nitratsensor soll in erster Linie zur Bestimmung kleiner Nitrationskonzentrationen in Trink- und Grundwässern eingesetzt werden. In verdünnten Lösungen kann die Aktivität eines Ions durch seine Konzentration angenähert werden. Deshalb werden für die nachfolgenden Betrachtungen die Konzentrationen der an der Ionenaustauschreaktion beteiligten Spezies eingesetzt.

Unter der Voraussetzung, daß Ionentauscher und Gegenion stark dissoziiert in der Membranphase vorliegen (vgl. Kap. 2.2.2), wird eine Polymermembran mit dem nitratselktiven Flüssigionentauschersystem $\text{Ni}[\text{bphen}]_3^{2+}$ / NPOE und dem protonenselektiven Indikatoranion von Bromkresolpurpur folgende Reaktion eingehen:



Der Gesamtreaktion liegt primär die Ionenaustauschreaktion (II) zwischen wässriger Lösung und Membran zugrunde:



Aus Gründen der Elektroneutralität muß die beim Übertritt von Nitrationen erfolgende Ladungsseparation durch Cotransport von Protonen in bzw. aus der Membran ausgeglichen werden. Die Konzentration der in die Membran übergetretenen Protonen ($c_{\text{H}^+_{m,r}}$) ist somit gleich der Konzentration der in die Membran übergetretenen Nitrationen ($c_{\text{NO}_3^-_{m,r}}$):

$$c_{\text{NO}_3^-_{m,r}} = c_{\text{H}^+_{m,r}} \quad (\text{III})$$

Werden die Messungen bei konstantem pH-Wert der wässrigen Lösungen durchgeführt, und ist das Volumen der Polymermembran vernachlässigbar im Vergleich zum Volumen der Meßlösung, gilt für die Protonenkonzentration in der Lösung:

$$c_{\text{H}^+ \text{aq}} = \text{const.} \quad (\text{IV})$$

Damit erhält man für die Gleichgewichtskonstante der Ionenaustauschreaktion (II):

$$K_{(\text{V})} = K_{(\text{II})} \cdot c_{\text{H}^+ \text{aq}} = \frac{c_{\text{H}^+ \text{m},r} \cdot c_{\text{NO}_3^- \text{m},r}}{c_{\text{NO}_3^- \text{aq}}} = \frac{(c_{\text{H}^+ \text{m},r})^2}{c_{\text{NO}_3^- \text{aq}}} \quad (\text{V})$$

Die Wasserstoffionen in der Membran unterliegen folgendem Gleichgewicht (VI):



Die Gesamtprotonenkonzentration $c_{\text{H}^+ \text{T},m}$ in der Membran nach Einstellung des Säure-Base-Gleichgewichtes ergibt sich aus der folgenden Beziehung:

$$c_{\text{H}^+ \text{T},m} = c_{\text{H}^+ \text{m},r} + c_{\text{H}^+ \text{m},0} - c_{\text{HIND}^-_{\text{m}}} \quad (\text{VII})$$

mit: $c_{\text{H}^+ \text{T},m}$ = Gleichgewichtskonzentration der Protonen in der Membran

$c_{\text{H}^+ \text{m},r}$ = Durch Ionenaustausch zusammen mit Nitrat in die Membran übergetretenen Protonen

$c_{\text{H}^+ \text{m},0}$ = Protonenkonzentration in der Membran, bei Abwesenheit von Nitrat in der wässrigen Lösung

Damit gilt für die Gleichgewichtskonstante in Gleichung (VI):

$$K_{(\text{VIII})} = \frac{c_{\text{HIND}^-_{\text{m}}}}{(c_{\text{H}^+ \text{m},r} + c_{\text{H}^+ \text{m},0} - c_{\text{HIND}^-_{\text{m}}}) \cdot c_{\text{IND}^{2-}_{\text{m}}}} \quad (\text{VIII})$$

Die Konzentration der Protonen, die durch Ionenaustausch zusammen mit Nitrat in die Membran übergetreten sind kann folglich ausgedrückt werden durch:

$$c_{\text{H}^+ \text{m},r} = \frac{c_{\text{HIND}^-_{\text{m}}}}{K_{(\text{VIII})} \cdot c_{\text{IND}^{2-}_{\text{m}}}} - c_{\text{H}^+ \text{m},0} + c_{\text{HIND}^-_{\text{m}}} \quad (\text{IX})$$

Durch Einsetzen der Gleichung (V) in Gleichung (IX) ergibt sich folgende Abhängigkeit:

$$\sqrt{c_{\text{NO}_3^- \text{aq}}} \cdot \sqrt{K_{(V)}} = \frac{c_{\text{HIND}^- \text{m}}}{K_{(VIII)} \cdot c_{\text{IND}^{2-} \text{m}}} - c_{\text{H}^+ \text{m},0} + c_{\text{HIND}^- \text{m}} \quad (\text{X})$$

Unter der Voraussetzung konstanter Totalkonzentrationen von Ionentauscher und Indikator in der Membran, kann die Konzentration an protonierten Indikatoranionen (c_{HIND^-}) durch die Differenz der Gesamtkonzentration des Indikators (C_{IND}) und der Konzentration des unprotonierten Indikatoranions ($c_{\text{IND}^{2-}}$) ausgedrückt werden:

$$c_{\text{HIND}^-} = C_{\text{IND}} - c_{\text{IND}^{2-}} \quad (\text{XI})$$

Durch Einsetzen von Gleichung (XI) in Gleichung (X) gilt somit für die Nitratkonzentration in der wässrigen Lösung:

(XII)

$$\sqrt{c_{\text{NO}_3^- \text{aq}}} = \frac{c_{\text{IND}}}{\sqrt{K_{(V)}} \cdot K_{(VIII)} \cdot c_{\text{IND}^{2-} \text{m}}} - \frac{c_{\text{IND}^{2-} \text{m}}}{\sqrt{K_{(V)}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{(V)}}} \cdot \left(C_{\text{IND}} - c_{\text{H}^+ \text{m},0} - \frac{1}{K_{(VIII)}} \right)$$

Die Nitratoptode weist ein Absorptionsspektrum mit einem Maximum bei $\lambda = 612 \text{ nm}$ auf. Diese Extinktion korreliert mit der Konzentration des divalenten Indikatoranions in der Membran (III in Abb. 4.1). Unter der Voraussetzung, daß bei dieser Wellenlänge keine andere Membrankomponente absorbiert, gilt nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz:

$$E = \varepsilon \cdot c_{\text{IND}^{2-} \text{m}} \cdot d \quad (\text{XIII})$$

E = Extinktion bei $\lambda = 612 \text{ nm}$

ε = molarer Extinktionskoeffizient von $\text{IND}^{2-} \text{m}$ bei 612 nm

d = Schichtdicke der Polymermembran

Hieraus folgt für die Abhängigkeit des Sensorsignals von der Nitrationenkonzentration bei konstantem pH-Wert aus Gleichung (XII):

$$\sqrt{c_{\text{NO}_3^- \text{ aq}}} = b_1 \cdot \frac{1}{E} + b_2 \cdot E + b_3 \quad (\text{XIVa})$$

bzw.

$$c_{\text{NO}_3^- \text{ aq}} = \left(b_1 \cdot \frac{1}{E} + b_2 \cdot E + b_3 \right)^2 \quad (\text{XIVb})$$

mit:

$$b_1 = \frac{c_{\text{IND}} \cdot \varepsilon \cdot d}{\sqrt{K_{(\text{V})}} \cdot K_{(\text{VIII})}}$$

$$b_2 = - \frac{1}{\sqrt{K_{(\text{V})}} \cdot \varepsilon \cdot d}$$

$$b_3 = \frac{1}{\sqrt{K_{(\text{V})}}} \cdot \left(c_{\text{IND}} - c_{\text{H}^+_{\text{m},0}} - \frac{1}{K_{(\text{VIII})}} \right)$$

4.4.4 Kalibrierung der Sensoren

Es sei nochmals darauf hingewiesen, daß die Optode wie die ionenselektive Elektrode auf die Ionenaktivität anspricht. Für die Konzentrationsbestimmung in gepufferten Lösungen muß deshalb eine konstante Ionenstärke eingestellt werden. Der Aktivitätskoeffizient ist dann zwar weiterhin unbekannt, aber in allen Lösungen annähernd gleich groß, wodurch das optische Signal von der Konzentration des Meßions abhängt.

Zur Messung mit den Sensoren wurde deshalb die Ionenstärke aller Eich- und Probenlösungen durch Zugabe von Na_2SO_4 -Lösung fixiert.

Anhand verschiedener Sensoren wurde überprüft, ob die experimentell ermittelten Daten mit der hergeleiteten Funktion (XIV) übereinstimmen.

Dazu wurde die Küvette abwechselnd mit Pufferlösung und Eichlösungen kontinuierlich durchströmt, und die Extinktion (612nm) des jeweiligen Sensors in Abhängigkeit von der Nitratkonzentration gemessen (Abb. 4.12).

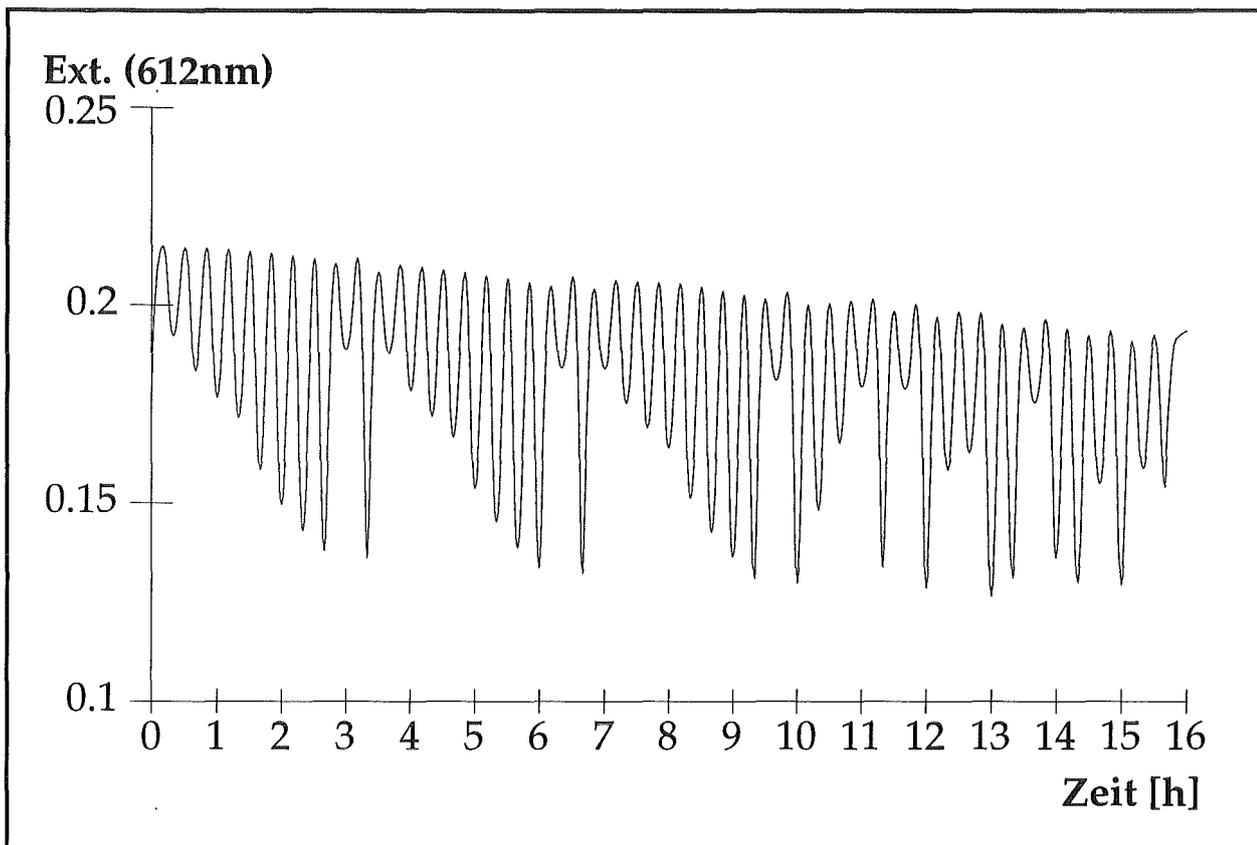


Abb. 4.12: Kontinuierliche Absorptionsmessung mit der Nitroptode

Der Sensor wurde wechselweise je 10 Min. mit Pufferlösung und Probenlösungen verschiedener Nitratkonzentrationen geprüft. Die Meßwerterfassung erfolgte über die Rechereinheit des Spektralphotometers.

Mit den gemessenen Extintionswerten wurden mittels multipler linearer Regression die Ansprechfunktionen nach Gleichung (XIVa) ermittelt.

In Tabelle 4.3 sind exemplarisch die Regressionsdaten für vier verschiedene Sensoren ohne Driftkorrektur, und für einen Sensor mit Driftkorrektur aufgeführt. Die Meßdaten der Nitratbestimmungen mit den Sensoren befinden sich in Anhang A2.

Tab. 4.3 Ergebnis der Regressionsanalysen für vier verschiedene Sensoren

Sensor	r	b1	b2	b3	Meßbereich Nitrat [mg/l]
1	0,9999	4,00	-8,50	-14,27	0-100
2	0,9999	3,72	-3,45	-16,55	0-100
3	0,9996	5,30	-11,16	-16,64	0-80
4	0,9998	4,06	-0,19	-16,95	0-100

Abb. 4.13 (a) zeigt die Wiederfindungsrate für Nitrat bei Sensor 1, in Abb. 4.13 (b) sind die mittels multipler linearer Regression nach Gleichung (XIVa) berechnete Funktionskurve und die experimentell ermittelten Extintionswerte in Abhängigkeit von der Nitratkonzentration aufgetragen.

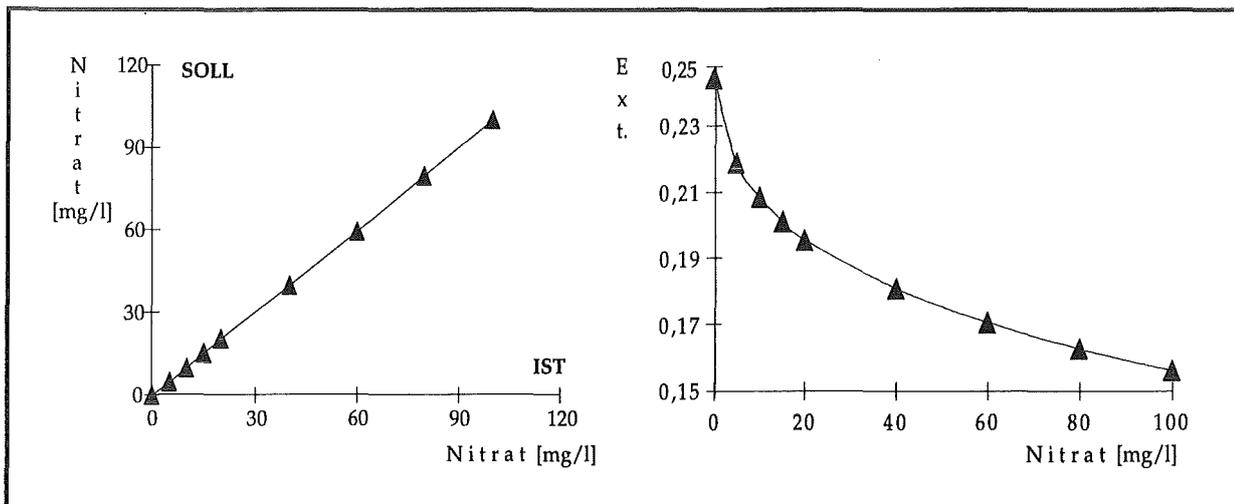


Abb. 4.13: Kalibrationskurven eines optischen Nitratsensors

- Die mittels multipler linearer Regression bestimmten Nitratkonzentrationen sind den vorgegebenen Nitratkonzentrationen gegenübergestellt. Der Korrelationskoeffizient wurde zu 0,9999 bestimmt.
- Ansprechfunktion der Optode bei 612 nm. Die Eichkurve wurde nach Gleichung (XIVa) berechnet.

Die Korrelationskoeffizienten ($> 0,999$) der Kalibrationskurven, und die Übereinstimmung der bestimmten mit den vorgegebenen Nitratkonzentrationen zeigen eine sehr gute Anpassung der Daten an die hergeleitete Ansprechfunktion für die Optode.

Analytisch einsetzbare chemische Sensoren sollen eine kontinuierliche und reversible Bestimmung des Meßions ermöglichen. Durch die an Sensoren gestellten speziellen Anforderungen muß mit einer gegenüber standardisierten Analysenverfahren, reduzierten Meßgenauigkeit gerechnet werden. Der Analysenfehler sollte bei kontinuierlicher Messung $< 10\%$ betragen.

Wie in Abschnitt 4.4.2 gezeigt, wird die Stabilität der Sensoren durch Auswaschungen der Membrankomponenten (vgl. Tab. 4.2) begrenzt. Für Messungen über längere Zeiträume muß die Signaldrift also rechnerisch kompensiert werden. Unter der vereinfachten Annahme, einer von der Nitrationkonzentration unabhängigen und linear verlaufenden Signaldrift, ergibt sich die korrigierte Extinktion bei $\lambda = 612\text{ nm}$ zu :

$$E_{k.} = E + t \cdot \Delta E_{\text{Drift}} \quad (\text{XV})$$

$$\begin{aligned} E_{k.} &= \text{korrigierte Extinktion (612 nm)} \\ E &= \text{gemessene Extinktion (612 nm)} \\ t &= \text{Zeit [Min.] seit Meßbeginn} \\ \Delta E_{\text{Drift}} &= \text{mittlere Signaldrift (612 nm) [Min.}^{-1}] \end{aligned}$$

Bei Durchflußraten von 3 ml/Min. wurde eine mittlere Signaldrift von $2 \cdot 10^{-5}/\text{Min.}$ angenommen (vgl. Tab. 4.2). Anhand Sensor 4 wurde die Präzision (Streuung der bestimmten Werte) und der Analysenfehler der Nitratbestimmung mit der Optode ermittelt. Der Analysenfehler bezeichnet die prozentuale Abweichung zwischen vorgegebener und ermittelter Nitratkonzentration.

Der Sensor wurde über einen Zeitraum von 11 Stunden abwechselnd mit Pufferlösung und Eichstandards geprüft. Die Auswertung erfolgte über die zuvor ermittelte Eichkurve für diesen Sensor unter Einbeziehung einer Driftkorrektur von $2 \cdot 10^{-5} / \text{Minute}$. Die Ergebnisse sind in Tab. 4.4 aufgeführt. Die Meßdaten befinden sich in Anhang A2.

Tab. 4.4: Präzision und Analysenfehler der kontinuierlichen Nitratbestimmung bei Anwendung der Driftkorrektur

vorgegebene Nitratkonz. [mg/l]	Zeit [Min]	Meßzyklus 1 Nitratkonz. [mg/l]	Zeit [Min]	Meßzyklus 2 Nitratkonz. [mg/l]	Zeit [Min]	Meßzyklus 3 Nitratkonz. [mg/l]	Mittelwert [mg/l]	Meßfehler [%]	Analysenfehler [%]
5,0	170	4,8	330	5,2	490	4,7	4,9 +/- 0,3	5,2	-2
10,0	190	10,5	350	10,4	510	9,6	10,2 +/- 0,5	4,9	2
15,0	210	15,7	370	15,5	530	15,3	15,5 +/- 0,2	1,1	3
20,0	230	21,3	390	21,0	550	19,8	20,7 +/- 0,8	3,9	3
40,0	250	40,7	410	40,3	570	38,2	39,8 +/- 1,3	3,3	-1
60,0	270	61,1	430	58,1	590	57,7	59,0 +/- 1,8	3,1	-2
80,0	290	79,4	450	75,7	610	75,2	76,8 +/- 2,3	3,0	-4
100,0	310	98,3	470	94,0	630	89,8	94,0 +/- 4,3	4,5	-6

Meßfehler: Der Meßfehler wird durch die relative Standardabweichung angegeben.

Analysenfehler: Der Analysenfehler bezeichnet die Abweichung von vorgegebener und bestimmter Nitratkonzentration.

Die Einzelproben konnten während der elfstündigen kontinuierlichen Messung mit einer Präzision von $\leq 6\%$ bestimmt werden. Der Analysenfehler unterschreitet die für den Sensor geforderten 10% über einen Konzentrationsbereich von $5 - 100$ mg/l Nitrat. Der Sensor kann somit, bei zweimaliger Kalibration pro Tag, zur kontinuierlichen Nitratbestimmung eingesetzt werden.

4.4.5 Bestimmungsgrenze des Analysenverfahrens

Die Bestimmungsgrenze ist die kleinste, sicher zu bestimmende Analytkonzentration unter vorgegebenen Bedingungen. Zur Berechnung der Bestimmungsgrenze des Analysenverfahrens wurde die Standardabweichung des Blindwertes entsprechend folgender Formel herangezogen:

$$C_{\text{Grenz.}} = f(X_{\text{min.}})$$

$$C_{\text{Grenz.}} = \text{Bestimmungsgrenze [mg Nitrat/l]}$$

$$X_{\text{min.}} = \text{Meßwert für die Bestimmungsgrenze}$$

$$X_{\text{min.}} = X'_B - 3 \cdot s(X_B)$$

$$X'_B = \text{mittlerer Blindwert der Meßgröße}$$

$$s(X_B) = \text{Blindwertstandardabweichung}$$

Da die Extinktion des Blindwertes über den Extinktionen der Meßwerte liegt, muß im vorliegenden Fall die dreimalige Blindwertstandardabweichung vom Blindwertmittel subtrahiert werden.

Zur Berechnung der Bestimmungsgrenze wurde eine Eichung im Konzentrationsbereich von 0,5 bis 10 mg/l durchgeführt. Die mittels multipler linearer Regression ermittelte Ansprechfunktion wird durch folgende Gleichung beschrieben:

$$\sqrt{c_{\text{NO}_3^- \text{aq}}} = 1,47 \cdot \frac{1}{E} - 40,75 \cdot E + 11,89$$

Der mittlere Blindwert aus 7 Messungen wurde zu $E_0 = 0,3832$ mit einer Standardabweichung von $s = 0,0021$ bestimmt. Der Extinktionswert E_B zur Berechnung der Bestimmungsgrenze beträgt dann $E_B = E_0 - 3 \cdot s = 0,3768$. Durch Einsetzen der Werte in die Regressionsgleichung erhält man für die Nitratbestimmung mit dem optischen Sensor eine Bestimmungsgrenze von $C_{\text{Grenz.}} = 0,2 \text{ mg/l Nitrat } (3 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l})$.

Die Bestimmungsgrenze ist besser als der für die nitratselektive Elektrode angegebene Wert von $7 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l Nitrat}$. Jedoch ist zu berücksichtigen, daß die Eichgerade der Elektrode in Konzentrationsbereichen $< 10^{-4} \text{ mol/l}$ nicht mehr linear verläuft, weshalb spezielle Eichkurven bei geringerer Hintergrundionenstärke aufgenommen werden müssen.

4.4.6 Querempfindlichkeit

Die Selektivität des Sensors auf das Meßion ist in der praktischen Anwendung von großer Bedeutung. Sind in der wässrigen Phase außer dem Analyt ionen anderer Ladung vorhanden, können auch diese in die Membranphase eindringen und das Ansprechverhalten des Sensors beeinflussen. Die Selektivität ist ein Maß, wie sehr der Übertritt des Analytens in die Membranphase gegenüber anderen Ionen gleicher Ladung bevorzugt wird.

Bei Verwendung des Flüssigionenaustauschers $\text{Ni}[\text{bphen}]_3^{2+} / \text{NPOE}$ liegen der Ionenaustauscher und das Gegenion stark dissoziiert in der Membran vor. Die Selektivität solcher Sensoren für verschiedene Anionen sollte unabhängig von den Eigenschaften des Ionenaustauschers sein und in erster Linie von der relativen Stärke der Wechselwirkungen zwischen Ionen und Lösungsmittel in beiden Phasen abhängen (vgl. Kap. 2.2.2).

Abb. 4.14 zeigt Kalibrationskurven einer Optode für Lösungen verschiedener Störionen. Zur Veranschaulichung des unterschiedlichen Ansprechverhaltens wurde die Konzentra-

tion in logarithmischer Einteilung dargestellt. Alle Messungen erfolgten ohne Einstellung konstanter Hintergrundionenstärke, um die Querempfindlichkeit für Sulfationen bestimmen zu können.

Die Optode spricht deutlich empfindlicher auf Nitrationen gegenüber den anderen Störionen an. Tatsächlich wird die erwartete Übereinstimmung zwischen der Selektivität der Optode und der Ionengröße und Hydratationsenergie der Anionen gefunden; die Selektivität steigt in der Reihe $\text{SO}_4^{2-} \ll \text{Cl}^- < \text{NO}_2^- < \text{NO}_3^-$ an.

Wie aus Abb. 4.14 abgeschätzt werden kann, muß Sulfat in ca. 1000-fach höherer Konzentration vorliegen als die zu bestimmende Nitratkonzentration, um einen Meßfehler von 10% zu verursachen. Natriumsulfat ist deshalb zur Einstellung konstanter Hintergrundionenstärken in Probenlösungen geeignet.

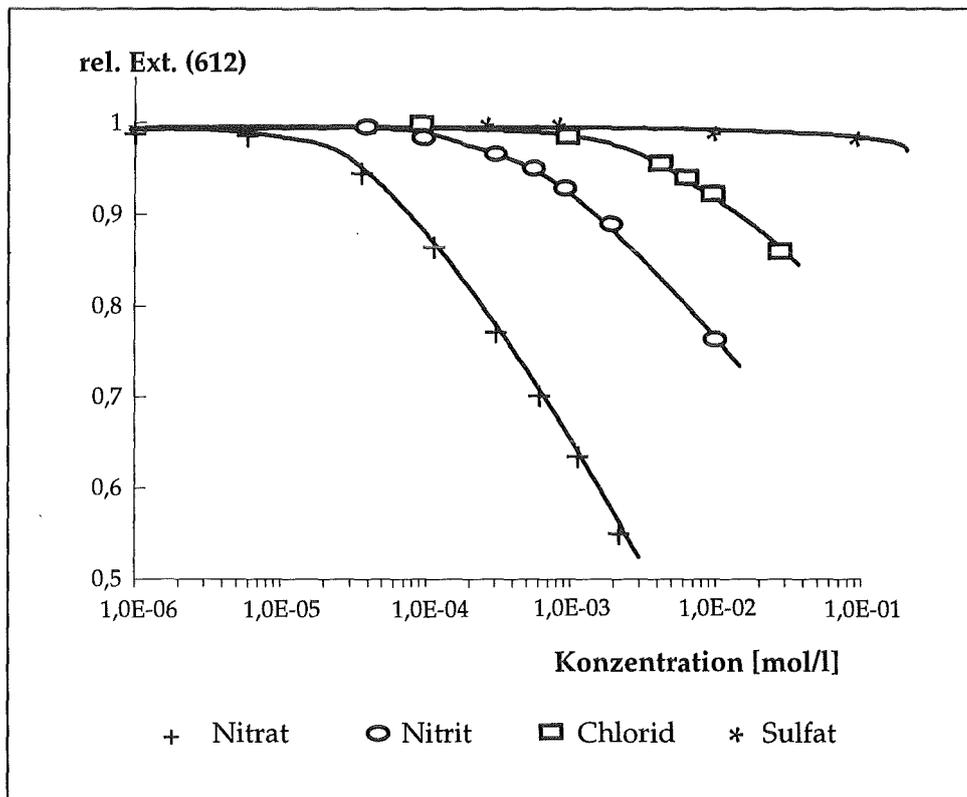


Abb. 4.14: Kalibrationskurven einer Nitratoptode für Nitrat und Lösungen einiger Störionen

Die Extinktionen der Sensoren wurden abwechselnd in Pufferlösung und Lösungen verschiedener Meßionenkonzentrationen gemessen. Zur Normierung der Extinktionswerte wurde für jeden Meßpunkt der Quotient $(\text{Ext}_{c(i)} / \text{Ext}_{\text{Puffer}})$ in Abhängigkeit von der jeweiligen Konzentration $c(i)$ aufgetragen. Alle Messungen erfolgten ohne Einstellung konstanter Hintergrundionenstärke, um die Querempfindlichkeit für Sulfationen zeigen zu können.

Die oben durchgeführte Untersuchung läßt nur qualitative Aussagen über die Selektivität der Optode zu. Zur quantitativen Betrachtung der Querempfindlichkeit wurden deshalb Messungen in gemischten Lösungen durchgeführt. Dazu wurde die Nitrationenkonzentration der jeweiligen Probelösung konstant gehalten und die Störionenkonzentration in den Lösungen variiert. In Tabelle 4.5 sind die Konzentrationen einiger Störionen für 10% Meßfehler bei einer konstanten Nitrationenkonzentration von 10^{-3} mol/l für die Nitratoptode und für die nitratselektive Elektrode (Herstellerangaben nach [48]) gegenübergestellt.

Tab. 4.5: Vergleich des Störioneneinfluß auf Optode und Elektrode

Störionenkonzentration für 10 % Meßfehler bei $c_{\text{Nitrat}} = 10^{-3}$ M		
Störanion	Optode	ISE (Metrohm)*
Chlorid	$1 \cdot 10^{-2}$ M	$3 \cdot 10^{-2}$ M
Nitrit	$7 \cdot 10^{-4}$ M	$7 \cdot 10^{-4}$ M
Bromid	$4 \cdot 10^{-4}$ M	$7 \cdot 10^{-4}$ M
Cyanid	$8 \cdot 10^{-5}$ M	$1 \cdot 10^{-4}$ M
Chlorat	$8 \cdot 10^{-5}$ M	$5 \cdot 10^{-5}$ M
Iodid	$8 \cdot 10^{-6}$ M	$6 \cdot 10^{-6}$ M
Perchlorat	$3 \cdot 10^{-7}$ M	$1 \cdot 10^{-7}$ M

* : Herstellerangaben für die nitrationenselektive Elektrode EA 301-NO₃ (Metrohm)

Als Ergebnis dieser Experimente kann festgehalten werden, daß die Optode, wie die Elektrode, die erwartete Selektivitätsfolge aufweist:



Der Einfluß von Störionen auf den Meßfehler liegt bei beiden Systemen in der gleichen Größenordnung. Für Nitratbestimmungen in Trink- und Grundwässern ist die hohe Selektivität für sehr lipophile Anionen wie ClO_3^- , I^- oder ClO_4^- von untergeordneter Relevanz, da sie nicht oder nur in sehr geringer Konzentration enthalten sind.

4.4.7 Standzeit

Unter der Standzeit des Sensors wird der Zeitraum verstanden, in dem mit der Optode, bei kontinuierlicher Durchflußmessung, Nitratbestimmungen mit vorgegebener Genauigkeit durchgeführt werden können.

Die Stabilität der Optode ist, wie bei der nitratselektiven Elektrode, in erster Linie durch Auswaschung der Membrankomponenten in die Meßlösung begrenzt, was eine Signaldrift der Sensoren zur Folge hat. Zur Abschätzung der Standzeit wurde die Extinktion eines Sensors über 9 Tage kontinuierlich in Meßlösungen verschiedener Konzentrationen gemessen und jeden Tag eine Eichkurve aufgenommen. In Tabelle 4.6 sind die Meßwerte für den ersten, dritten und neunten Tag aufgeführt.

Tab. 4.6: Langzeitstabilität des Sensors

Nitrat [mg/l]	1. Tag			3. Tag			9. Tag			
	E(612)	best. [mg/l]	Δ [%]	E(612)	best. [mg/l]	Δ [%]	E(612)	ΔE	best. [mg/l]	Δ [%]
0	0,480	0	-	0,446	0	-	0,199		0	-
8,2	0,421	8,3	2	0,385	7,9	-3	0,170	0,029	8,3	1
14,8	0,406	14,4	-3	0,368	14,2	-4	0,162	0,008	14,4	-3
23,2	0,392	22,2	-4	0,353	23	-1	0,154	0,008	24	4
29	0,380	30,4	5	0,343	30,4	5	0,150	0,004	29,3	1
46	0,363	47	2	0,326	47,1	2	0,143	0,008	44,1	-4
57,2	0,356	56	-2	0,318	56,1	-2	0,138	0,005	56,2	-2
62	0,350	62,1	0,2	0,314	63	2	0,134	0,004	64,8	4
81	0,339	80,8	-0,2	0,303	79,7	-2	0,130	0,004	80,1	-1

Wie aus Tabelle 4.6 ersichtlich, ist eine Nitratbestimmung mit 5 % Genauigkeit nach 9 Tagen zwar noch möglich, die Extinktion des Sensors ist jedoch auf etwa 40 % des Ausgangswertes gefallen. Die Extinktionsdifferenzen zwischen den aufeinander folgenden Meßwerten liegen zum Teil unterhalb der Meßgenauigkeit des Photometers, die nach Herstellerangaben $\pm 0,005$ Extinktionseinheiten beträgt.

Die Standzeit der Optode wird deshalb mit ≤ 10 Tagen bei kontinuierlicher Messung im Durchfluß angegeben.

Trink- und Grundwässer weisen nur geringe Schwankungen in ihrer chemischen Zusammensetzung auf. Die Anforderung an die Ansprechzeit ist deshalb geringer, weshalb der Einsatz von Sensoren mit größerer Schichtdicke denkbar ist. Hierdurch wird die Standzeit der Sensoren, bei gleichzeitig erhöhter Ansprechzeit deutlich verbessert.

4.5 BESTIMMUNG DES NITRATGEHALTES IN REALEN PROBEN

Der Hauptvorteil chemischer Sensoren gegenüber standardisierten Analysenverfahren liegt in der Möglichkeit der leichten Adaption als Detektoren zur in-line bzw. on-line Bestimmung in Durchflußsystemen. Dies trifft insbesondere dann zu, wenn der Sensor selektiv auf das Meßion anspricht. In den meisten Fällen ist jedoch eine chemische Vorbehandlung realer Proben nötig, da das Ansprechverhalten der Sensoren durch in der Probe vorhandene Störionen beeinflusst wird (vgl. Kap. 4.4.6).

Der optische Sensor und die nitratselektive Elektrode wurden als mögliche Detektoren in einem on-line-System zur kontinuierlichen Nitratbestimmung in natürlichen Wässern getestet und miteinander verglichen.

Bei der Wahl der Meßbedingungen muß berücksichtigt werden, daß beide Sensoren auf die Ionenaktivität in der Meßlösung ansprechen. Bei Messungen mit der Optode muß der pH-Wert konstant gehalten werden. Deshalb wurden die Hintergrundionenstärke und der pH-Wert der Lösungen mit einer sulfathaltigen Pufferlösung (pH 6,9) fixiert. Als Störionen für die Nitratbestimmung in natürlichen Wässern ist hauptsächlich Chlorid zu erwarten. Auf den Zusatz von Silbersulfat zur Ausfällung der Chloridionen wurde aber aufgrund der zu erwartenden Trübung der Meßlösung bzw. Belegung der Sensoroberflächen mit Silberchlorid, und der damit verbundenen Störungen der Sensorsignale, verzichtet.

Das Durchflußsystem zur kontinuierlichen Nitratbestimmung wurde mit der ionenchromatographischen Bestimmung als Standardmethode verglichen. Zur Erkennung eines möglichen Störeinflusses von Chloridionen auf die Nitratbestimmung wurde dieses Störion zusätzlich ionenchromatographisch bestimmt.

Zum direkten Vergleich von Optode und Elektrode wurden die Durchflußzellen hintereinander angebracht, und die Analysen simultan ausgeführt. Beide Systeme wurden kontinuierlich mit Pufferlösung, Eichstandards und den Meßlösungen beschickt. Die Kalibrierung und Auswertung für die Optode erfolgte wie in Kap. 4.4.4 beschrieben. Die Auswertung mit der Elektrode erfolgte anhand der mit Eichstandards erstellten Eichgeraden.

Die Ansprechzeiten beider Systeme lagen im Bereich von 10 Minuten. Bei der Elektrode wurde während der kontinuierlichen Messung eine Signaldrift von $\sim 0,3$ mV/h beobachtet. Dies stimmt mit Angaben von Trojanowicz und Lewandowski [50] für kontinuierliche Nitratbestimmungen mit der nitratselektiven Elektrode überein, die eine Signaldrift von 5 mV/24 h während der ersten 100 Stunden beobachteten. Deshalb wurde die Elektrode nach jeweils zwei Stunden neu kalibriert. Die Ergebnisse der Nitratbestimmung sind in Tabelle 4.7 aufgeführt. Die angegebenen Konzentrationen sind Mittelwerte aus dreifacher Bestimmung aller Proben. Die Probenahmeprotokolle der Wässer sind in Anhang A1 aufgelistet.

Es bedeuten: T Trinkwasser aus der öffentlichen Trinkwasserversorgung
 B Brunnenwasser
 F Flußwasser
 S Seewasser

Tab. 4.7 Ergebnis der kontinuierlichen Nitratbestimmung mit Optode und Elektrode im Durchfluß, im Vergleich zur Referenzmethode (IC).

Probe	I C		ISE [mg NO ₃ ⁻ /l]	Δ [%]	Optode [mg NO ₃ ⁻ /l]	Δ [%]
	[mg Cl ⁻ /l]	[mg NO ₃ ⁻ /l]				
T ₁	9,9	4,8	-		5,2	+8
T ₂	60,5	3,0	6,2	+107	2,6	-13
T ₃	32,5	17,1	21,0	+19	16,5	-4
B ₁	18,8	9,6	8,6	-10	9,0	-7
F ₁	13,5	12,4	14,7	+19	12,4	±0
F ₂	7,3	9,6	11,0	+15	10,7	+11
F ₃	102	8,7	13,1	+51	9,1	+5
F ₄	9,3	9,2	11,5	+25	12,8	+39
F ₅	6,2	3,6	5,4	+50	4,2	+16
F ₆	14,2	13,5	15,5	+15	12,4	-8
S ₁	21	19,5	20,6	+6	21,8	+12

IC: ionenchromatographische Bestimmung (Referenzmethode)
 ISE: nitrationenselektive Elektrode (Metrohm EA 301 NO₃) im Durchfluß
 Δ: prozentuale Abweichung von der Referenzmethode
 -: Messung wurde nicht durchgeführt

Während die mit der Optode ermittelten Nitratgehalte in Trinkwasser um etwa 10% und in den anderen Proben um etwa 15 % (mit Ausnahme von Probe F₄) von der Referenzmethode abweichen, zeigen die mit der Elektrode ermittelten Konzentrationen eine systematische Abweichung zu höheren Werten. Besonders bei Wässern mit kleinen Nitratgehalten (T₂, F₅), weicht der mit der Elektrode bestimmte Wert deutlich von der Referenzmethode ab. Eine Erklärung dafür ist ein verändertes Ansprechverhalten der Elektrode durch die mit dem Ionentauscher in die Meßlösung austretenden Nitrationen, was sich im nichtli-

nearen Verlauf des Eichkurvenastes bei ionenselektiven Elektroden äußert. Für Messungen im Bereich $\leq 10^{-4}$ mol Nitrat / l (~ 6 mg/l) müßte zur Nitratbestimmung mit der Elektrode eine spezielle Eichung mit einer geringeren Hintergrundionenstärke durchgeführt werden.

Weiterhin fällt auf, daß der Störeinfluß von Chloridionen bei der Elektrode größer zu sein scheint, als nach den Herstellerangaben zu erwarten wäre, während bei der Optode keine systematische Abweichung zu höheren oder niedrigeren Nitratgehalten beobachtet werden kann. Die Probe F₃ weist nach der ionenchromatographischen Bestimmung einen Nitratgehalt von 8,7 mg/l bei einem Chloridgehalt von 102 mg/l auf. Nach der Spezifikation der Elektrode [48] sollte der Meßfehler der Nitratbestimmung bei diesem Chloridgehalt im Bereich von 10% liegen; tatsächlich weicht der bestimmte Wert um 50 % von der Referenzmethode ab.

Dennoch sollte daraus nicht geschlossen werden, daß die Optode das bessere System zur Nitratbestimmung ist, da die Analysen unter, für die Messung mit der Nitratoptode, optimierten Bedingungen durchgeführt wurden. Zur Absicherung einer solchen Aussage müßten die Proben zudem auf alle potentiellen Störionen untersucht werden.

Die Abbildung 4.15 zeigt den graphischen Vergleich zwischen der Nitratbestimmung mit der Optode im Durchfluß und der ionenchromatographischen Nitratbestimmung für Trinkwasser bzw. für Fluß-, See- und Brunnenwasser.

Die Nitratbestimmung in Trinkwässern konnte mit einer Abweichung von ca. 10 % von den mit der Ionenchromatographie ermittelten Konzentrationen durchgeführt werden. Damit erfüllt die Optode die Anforderungen für den Einsatz als Detektor in einem Durchflußsystem zur kontinuierlichen Nitratbestimmung. Die größeren Abweichungen bei Flußwässern ist auf den erhöhten Anteil von Störionen zurückzuführen. Bei der Kombination der Nitratoptode mit anderen Sensoren zu einem Sensorarray sollte es aber möglich sein, die ermittelten Konzentrationen in Abhängigkeit von den Einzelkonzentrationen aller Störionen rechnerisch zu korrigieren und damit sogar eine Nitratbestimmung in Flußwasser mit 10% Meßgenauigkeit zu ermöglichen.

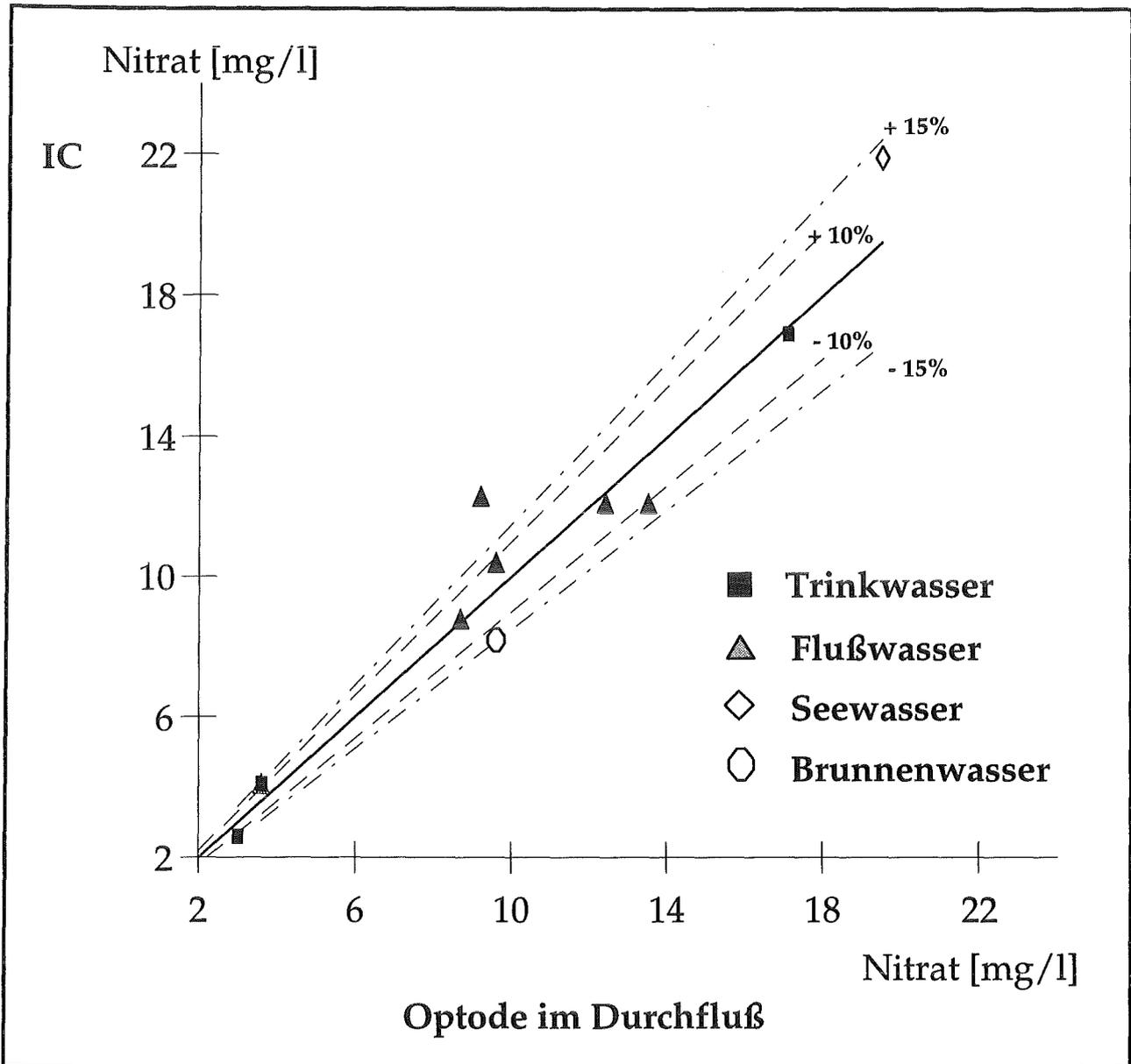


Abb. 4.15: Vergleich der Nitratbestimmungen mit Optode und Ionenchromatographie in realen Proben

Der Abstand der Meßpunkte von der Winkelhalbierenden beschreibt die Abweichung der optischen Nitratbestimmung von der Referenzmethode. Die Nitratgehalte der Trinkwasserproben konnten mit einer Abweichung im Bereich von 10% bestimmt werden, die ermittelten Werte für die anderen Wässer weichen um etwa 15% (mit Ausnahme von F₄) von den mit der Referenzmethode bestimmten Konzentrationen ab.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung eines optisch-chemischen Sensors zur kontinuierlichen reversiblen Nitratbestimmung in Trink- und Grundwasser.

Voraussetzung für den praktischen Einsatz eines solchen Sensors ist die selektive Wechselwirkung mit dem Analyten. Üblicherweise wird bei optischen Sensoren ein Reagenzfarbstoff auf bzw. in einer inerten Rezeptorschicht immobilisiert, der bei Wechselwirkung mit dem Analyten reversibel seine optischen Eigenschaften ändert. Derartige Farbstoffe sind für Nitrationen nicht bekannt. Da Nitrationen im sichtbaren Spektralbereich keine Eigenabsorption aufweisen, wurde die Kombination eines anionenselektiven Flüssigionentauschers mit einem pH-sensitiven Absorptionsfarbstoff in einer geeigneten Polymermembran, zur Entwicklung einer nitratsensitiven Rezeptorschicht untersucht. Eine solche Optode ist nach dem Prinzip des Cotransports aufgebaut: Das durch den Phasendurchtritt von Nitrationen in die Membran entstehende Potential wird durch Coextraktion von Protonen aus der wässrigen Lösung kompensiert. Die Nitratkonzentration in der wässrigen Lösung korreliert somit mit der Protonenkonzentration in der Membran und kann spektroskopisch über die Protonierung des Indikatoranions bestimmt werden.

Als anionenselektives Austauschermaterial wurde die Komplexbildung $\text{Ni(II)[bathophenanthrolin]}_3^{2+}$ ausgewählt, das sich zur Herstellung nitratselektiver Elektroden bewährt hat; als protonenselektiver Indikator (Chromoionophor) wurde ein Phenolsulfonphthaleinfarbstoff eingesetzt. In Vorversuchen wurde gezeigt, daß die Komplexbildungen mit den sulfonsauren Anionen von Bromkresolpurpur oder Bromphenolblau als Ionenpaar in einem lipophilen Lösungsmittel immobilisiert werden können. Dies hat den Vorteil, daß diese Farbstoffe, ohne chemische Immobilisierung in der Rezeptorschicht oder Derivatisierung zur Erhöhung der Lipophilie, direkt verwendet werden können.

Zunächst wurde ein spektralphotometrischer Nachweis von Nitrationen durch Flüssigextraktion entwickelt. Im Hinblick auf einen späteren Einsatz von Polyvinylchlorid-Membranen wurde die Rezeptormatrix durch Dichlormethan simuliert.

Die Coextraktion von Nitrationen und Protonen konnte bestätigt werden. Mit steigender Nitratkonzentration in der Meßlösung wird der Indikator in der organischen Phase zunehmend protoniert und ändert seine optischen Eigenschaften. Die Nachweisreaktion ist schnell und reversibel, da das Analyt nicht komplexiert wird, sondern dissoziiert und frei beweglich in der organischen Phase vorliegt. Dies ist im Hinblick auf die Entwicklung einer polymeren Rezeptorschicht wünschenswert, da die Ansprechzeit dann nur durch die Diffusion der extrahierten Ionen terminiert wird. Die Extraktionsversuche haben gezeigt,

daß die Nitratbestimmung bei konstantem pH-Wert der Meßlösung durchgeführt werden müssen, da die Chromoionophore protonenselektiv sind. Durch Auswahl geeigneter Indikatoren ist es möglich, den optischen Nitratnachweis an den pH-Wert der zu untersuchenden Proben anzupassen.

Als Matrix für die Herstellung sensitiver Schichten wurde Polyvinylchlorid verwendet. Dieses Polymer ist inert gegenüber den membranaktiven Substanzen, transparent, und weist im sichtbaren Wellenlängenbereich keine Eigenabsorption auf. Die gute Löslichkeit in Tetrahydrofuran erlaubt die Herstellung dünner Schichten und damit kurzer Diffusionswege.

Voraussetzung für den reversiblen Austausch von Ionen zwischen Membran und Meßlösung ist die freie Beweglichkeit der Rezeptormoleküle in der sensitiven Schicht. Zur Plastifizierung der Membran werden Lösungsmittel mit niedrigem Dampfdruck und geringer Wassermischbarkeit eingesetzt. Es konnte gezeigt werden, daß die Wahl des Weichmachers einen entscheidenden Einfluß auf die Eigenschaften der sensitiven Schicht ausübt. Werden Lösungsmittel mit Dielektrizitätskonstanten $\epsilon < 10$, wie Bis(2-ethyl-hexyl)-sebacat (DOS), verwendet, bildet der Ionentauscher mit dem Farbstoff stabile Ionenassoziate, und die Rezeptorschicht zeigt keine Nitratsensitivität. Dagegen wurden mit 2-Nitrophenyl-octylether ($\epsilon = 23,5$) als Lösungsmittel nitratsensitive Schichten erhalten. Durch die Synthese des Ionentauschers in 2-Nitrophenyl-octylether konnte der Ionophorgehalt in der Membran und damit die Sensitivität der Optode erhöht werden.

Die Ansprechzeiten (t_{99}) von durch einem Gießverfahren hergestellten Sensoren lagen für Hin- und Rückreaktion im Bereich von 20 Minuten. Gleichzeitig wiesen diese Sensoren geringe Signalstabilität durch Auswaschungen des Ionentauschers und des Farbstoffes auf.

Zur Optimierung der Langzeitstabilität wurden Polymermembranen mit höherem PVC-Anteil hergestellt. Durch Ionenpaarbildung des Farbstoffes mit einem schwach basischen Anionentauscher (Amberlite LA-2) wurde gleichzeitig die Farbstoffkonzentration in der Membran erhöht, wodurch dünnere Sensorschichten mit kurzer Ansprechzeit und hoher Signalamplitude hergestellt werden konnten. Mit der Einführung zusätzlicher positiver Ankergruppen in die Membran wurde außerdem der Austausch von Farbstoffanionen gegen Nitrationen bei erhöhter Meßionenkonzentration verlangsamt, und damit die Stabilität der Sensoren erhöht. Durch Beschichtung von rotierenden Plexiglasplättchen wurden Membranen mit $\leq 10 \mu\text{m}$ Dicke reproduzierbar hergestellt. Die Ansprechzeiten (t_{99}) konnten durch diese Modifikationen auf 7 Minuten verbessert werden, bei gleichzeitig verdoppelter Stabilität gegenüber den gegossenen Membranen.

Die Standzeit der Sensoren bei kontinuierlicher Messung im Durchfluß (3 ml/Min.) kann mit 10 Tagen angegeben werden. Die Stabilität des Sensors wird in erster Linie durch Auswaschung der Membrankomponenten in die Meßlösung begrenzt. Die mittlere Signaldrift der Sensoren beträgt ca. $2 \cdot 10^{-5}$ Extinktionseinheiten pro Minute. Durch rechnerische Driftkompensation wurde es möglich, kontinuierliche Nitratbestimmungen mit einem Bestimmungsfehler $< 10\%$ durchzuführen. Eine Neukalibrierung des Sensors im kontinuierlichen Betrieb ist nur etwa alle zwölf Stunden erforderlich. Die untere Bestimmungsgrenze des Analysenverfahrens liegt mit 0,2 mg/l Nitrat ($3 \cdot 10^{-6}$ mol/l) unter der Bestimmungsgrenze der nitratselektiven Elektrode ($7 \cdot 10^{-6}$ mol/l Nitrat). Der optische Sensor zeigt hier Vorteile, bedenkt man, daß Messungen im Konzentrationsbereich $< 10^{-4}$ mol/l Nitrat mit der Elektrode nur bei Aufnahme spezieller Eichkurven möglich sind. Die Selektivität des Sensors steigt, analog der nitratselektiven Elektrode, mit abnehmender Hydratationsenergie des Meßions in der folgenden Reihe:



Der Einfluß von Störionen auf den Meßfehler liegt bei beiden Systemen in der gleichen Größenordnung. Für Nitratbestimmungen in Trink- und Grundwässern ist die hohe Selektivität für sehr lipophile Anionen wie ClO_3^- , I^- oder ClO_4^- von untergeordneter Relevanz, da diese nicht oder nur in sehr geringer Konzentration darin enthalten sind.

Der optische Sensor wurde in einem on-line-System zur kontinuierlichen Nitratbestimmung in natürlichen Wässern getestet.

Die Nitratgehalte in Trinkwässern konnten mit einer Abweichung von ca. 10 % von den mit der Ionenchromatographie (Referenzmethode) bestimmten Konzentrationen ermittelt werden. Damit erfüllt die Optode die Anforderungen für den Einsatz als Detektor in einem Durchflußsystem zur kontinuierlichen Nitratbestimmung. Der Meßfehler bei den untersuchten Fließ- und Oberflächenwässern lag im Bereich von 15%. Dies war vermutlich auf den erhöhten Anteil von Störionen in diesen Proben zurückzuführen. Bei der Kombination der Nitratoptode mit weiteren ionenselektiven Sensoren zu einem Sensorarray sollte es aber möglich sein, die ermittelten Konzentrationen in Abhängigkeit von den Einzelkonzentrationen aller Störionen rechnerisch zu korrigieren und damit auch eine Nitratbestimmung in diesen Wässern mit 10% Meßgenauigkeit zu ermöglichen.

Der entwickelte optisch-chemische Nitratsensor zeichnet sich durch ein einfaches Herstellungsverfahren aus und könnte, im Hinblick auf die spektrale Detektion und die Signalerfassung, problemlos an optochemische Komponenten (Leucht- und Photodioden) angepaßt werden. Die Verwendung des transparenten Polymers läßt eine praktisch beliebige

Formgebung zu, so daß durch Beschichtung von Lichtleitern miniaturisierte Sonden realisierbar sind.

Die Kombination mit einem Ammonium- und einem pH-Sensor zu einem Sensorarray ließe die simultane Bestimmung dieser Stickstoffverbindungen in Trink- und Grundwasser zu.

6. Literaturverzeichnis

- [1] F. L. Dickert, S. K. Schreiner, G. R. Mages, H. Kimmel; *Anal. Chem.* **61(20)**, 1989, 2306-2309
- [2] J. E. Freeman, A. G. Childers, A.W. Steele, G. M. Hieftje; *Anal. Chim. Acta* **177**, 1985, 121-128
- [3] D. W. Lubbers, N. Opitz; *Sensors and Actuators* **4**, 1983, 641-654
- [4] W. A. Chudyk, M. M. Carraba, J. E. Kenny; *Anal. Chem.* **57**, 1985, 1237-1242
- [5] F. Selenka; Gesundheitliche Bedeutung des Nitrats in unserer Nahrung. In: Nitrat - ein Problem für unsere Trinkwasserversorgung, *Arbeiten der DLG*, **Bd. 177**, DLG-Verlag, Frankfurt 1983
- [6] World Health Organization, Hrsg.: Health Hazards from Nitrates in Drinking-Water, Report on a WHO meeting, Copenhagen 5-9 March 1984. Copenhagen: World Health Organization, Regional Office for Europe, 1985
- [7] H. Petri; Nitrat und Nitrit. In: Die Trinkwasserversorgung, Einführung und Erläuterung für Wasserversorgungsunternehmen und Überwachungsbehörden. Hrsg.: K. Aurand, U. Hässelbarth, G. von Nieding, W. Schumacher, W. Steuer; 2. Auflage, E. Schmidt Verlag, Berlin 1987
- [8] Bekanntmachungen des Bundesgesundheitsamtes; *Bundesgesundhbl.* **29**, 1986, 192
- [9] Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe (Trinkwasserverordnung - TrinkwV) vom 22. Mai 1986 (**BGBI. I, S. 760**)
- [10] Richtlinie des Rates vom 15. Juli 1980 über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (**80/778/EWG**), *Abl. der EG* vom 30. August 1980 **Nr. L229/11**
- [11] Länderarbeitsgemeinschaft Wasser: LAWA-Wasserversorgungsbericht 1986, E. Schmidt Verlag, Berlin 1987
- [12] A. Hulanicki, S. Glab, F. Ingman; *Pure & Appl.Chem.* **63(9)**, 1991, 1247-1250
- [13] K. Camman, U. Lemke, A. Rohen, J. Sander, H. Wilken, B. Winter; *Angew. Chem* **103**, 1991, 519-541
- [14] R. Narayanaswamy, F. Sevilla; *J. Phys. E: Sci. Instrum.* **21**, 1988, 10-17
- [15] F. Oehme; *Technische Mitteilungen* **79(9)**, 1986, 403-408

- [16] J. Janata; *Anal. Chem.* **62**, 1990, 33R-44R
- [17] D. W. Lübbers, N. Opitz; *Z. Naturforsch.* **30c**, 1975, 532
- [18] S. A. Borman; *Anal. Chem.* **53**, 1981, 1616-1618A
- [19] O. S. Wolfbeis; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **325**, 1986, 387-392
- [20] O. S. Wolfbeis, H. E. Posch; *Anal. Chim. Acta* **185**, 1986, 321-327
- [21] W. R. Seitz: Optical sensors based on immobilized reagents; in A.P.F. Turner, I. Karube, G. S. Wilson; *Biosensors, Fundamentals and Applications*, Oxford University Press, 1987, New York
- [22] P. Judex; Dissertation, Universität (TH) Karlsruhe, 1991
- [23] R. Czolk; Dissertation, Universität (TH) Karlsruhe, 1990
- [24] J. S. Schultz; U.S. Patent **43 444 38**, 1982
- [25] G. J. Moody, R. B. Oke, J. D. R. Thomas; *Analyst* **95**, 1970, 910
- [26] R. W. Cattrall, H. Freiser; *Anal. Chem.* **43**, 1971, 1905
- [27] L. Keil, G. J. Moody, J. D. R. Thomas; *Analyst* **102**, 1977, 274
- [28] W. E. Morf, P. Wuhrmann, W. Simon; *Anal. Chem.* **48**, 1976, 1031-1040
- [29] W. E. Morf, K. Seiler, B. Lehmann, C. Behringer, K. Hartmann, W. Simon; *Pure & Appl. Chem.*, **61(9)**, 1989, 1613
- [30] G. Eisenmann; in: R. A. Durst (Hrsg.), "Ion-Selective Electrodes", National Bureau of Standards Special Publication **314**, 1969, 73
- [31] R. E. Reinsfelder, F. A. Schultz; *Anal. Chim. Acta* **65**, 1973, 425-435
- [32] F. Conti, G. Eisenmann; *Biophys. J.* **6**, 1966, 227
- [33] J. P. Sandblom, G. Eisenmann, J. L. Walker Jr.; *J. Phys. Chem.* **71**, 1967, 3862
- [34] A. Hulanicki, R. Lewandowski; *Chemia anal. (Warsaw)* **19**, 1974, 53
- [35] J. E. W. Davis, G. J. Moody, J. D. R. Thomas; *Analyst* **97**, 1972, 87-94
- [36] A. M. Y. Jaber, G. J. Moody, J. D. R. Thomas; *Analyst* **101**, 1976, 179
- [37] J. W. Ross; U.S. Patent **3 483 112**, 1969

- [38] Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Verlag Chemie Weinheim; Stand: 26. Lieferung 1992
- [39] S. S. Tan, P. C. Hauser, N. A. Chaniotakis, G. Suter, W. Simon; *Chimia* **43**, 1989, 257-261
- [40] E. C. White, S. F. Acree; *J. Am. Chem. Soc.* **41**, 1919, 1190-1212
- [41] D. M. Blow, A. Rich; *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 1960, 3572
- [42] C. Reichardt; "Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry", 2.Aufl., Verlag Chemie Weinheim, 1988
- [43] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh; "Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie", 2. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1984
- [44] A. Hulanicki, M. Maj-Zurawska, R. Landowski; *Anal. Chim. Acta* **98**, 1978, 151-155
- [45] G. J. Moody, J. D. R. Thomas; in H. Freiser (Hrsg.); "Ion-Selective Electrodes in Analytical Chemistry", Plenum Press, New York, 1978, 287-307
- [46] T. P. Jones, M. D. Porter; *Anal. Chem.* **60**, 1988, 404
- [47] P. L. Bailey; "Analysis with Ion-Selectiv Electrodes", Heyden-Verlag London, 1976
- [48] Herstellerangabe: Begleitheft zur Nitrationen-Selektiven Elektrode EA 301-NO₃; Metrohm AG, CH-9100 Herisau
- [49] K. Doerffel; "Statistik in der analytischen Chemie", Verlag Chemie, Weinheim, 1984
- [50] M. Trojanowicz, R. Lewandowski; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **308**, 1981, 7-10

7. Anhang

Anhang A1: PROBENAHMEPROTOKOLLE DER UNTERSUCHTEN WASSERPROBEN

I. Trink- und Rohwasser

Verfahren: DEV-DIN 38 402-A14

Bezeichnung der Probe: T₁

Probenkennzeichnung: Trinkwasser aus der öffentlichen Wasserversorgung;
7505 Ettlingen-Schöllbronn, Ortsmitte

Datum: 2. 02. 1992

Uhrzeit: 8.00 Uhr

Volumen: 1 l

Probenahmeart: Entnommen als Einzelprobe aus Entnahmearmatur nach 6
Minuten

Wahrnehmungen bei Probenahme:

Farbe: nicht wahrnehmbar (n.w.) Trübung: n.w. Bodensatz: n.w.

Geruch: n.w.

pH-Wert der Probe: 7,3 Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

Bezeichnung der Probe: T₂

Probenkennzeichnung: Trinkwasser aus der öffentlichen Wasserversorgung;
Kernforschungszentrum Karlsruhe, Gebäude 321

Datum: 3. 02. 1992

Uhrzeit: 8.00 Uhr

Volumen: 1 l

Probenahmeart: Entnommen als Einzelprobe aus Entnahmearmatur nach 6
Minuten

Wahrnehmungen bei Probenahme:

Farbe: n.w. Trübung: n.w. Bodensatz: n.w. Geruch: n.w.

pH-Wert der Probe: 7,5 Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

Bezeichnung der Probe: T₃

Probenkennzeichnung: Trinkwasser aus der öffentlichen Wasserversorgung;
7520 Bruchsal-Büchenau, Ortsmitte

Datum: 4. 02. 1992

Uhrzeit: 7.00 Uhr

Volumen: 1 l

Probenahmeart: Entnommen als Einzelprobe aus Entnahmearmatur nach 6
Minuten

Wahrnehmungen bei Probenahme:

Farbe: n.w. Trübung: n.w. Bodensatz: n.w. Geruch: n.w.

pH-Wert der Probe: 6,9 Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

Bezeichnung der Probe: B₁

Probenkennzeichnung: Rohwasser aus dem betriebseigenen Brunnen der Fa.
Seidel; 75 Karlsruhe, Daimlerstraße

Datum: 3. 02. 1992

Uhrzeit: 14.00 Uhr

Volumen: 1 l

Probenahmeart: Entnommen als Einzelprobe aus Entnahmearmatur nach 6
Minuten

Wahrnehmungen bei Probenahme:

Farbe: n.w. Trübung: n.w. Bodensatz: n.w. Geruch: n.w.

pH-Wert der Probe: 7,3 Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

II. Fließgewässer

Verfahren: DEV-DIN 38 402-A15

Bezeichnung der Probe: F₁

Name des Gewässers: Beierbach

Ort: 7505 Ettlingen; Brücke zwischen Ettlingenweiher und Oberweiher

Entnahmestelle: Bachmitte in 10 cm Tiefe.

Datum: 2.02.1992

Uhrzeit: 8.30 Uhr

Volumen: 1 l

Probenahmeart: manuell

Wahrnehmungen am Ort der Probenahme:

Trübung: n.w.

Lufttemperatur: 4°C

pH-Wert der Probe: 7,0

Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

Bezeichnung der Probe: F₂

Name des Gewässers: Moos

Ort: Moosalbtal zwischen 7505 Ettlingen-Schöllbronn und 7560 Gaggenau-Moosbronn

Entnahmestelle: rechtes Flußufer in 10 cm Tiefe.

Datum: 2.02.1992

Uhrzeit: 9.00 Uhr

Volumen: 1 l

Probenahmeart: manuell

Wahrnehmungen am Ort der Probenahme:

Trübung: n.w.

Lufttemperatur: 4°C

pH-Wert der Probe: 5,9

Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

Bezeichnung der Probe: F₃

Name des Gewässers: Rhein
Ort: Zollamt 7512 Rheinstetten-Neuburgweier
Entnahmestelle: rechtes Flußufer in 30 cm Tiefe.
Datum: 2.02.1992
Uhrzeit: 12.30 Uhr
Volumen: 1 l
Probenahmeart: manuell

Wahrnehmungen am Ort der Probenahme:

Trübung: n.w.

Lufttemperatur: 5°C

pH-Wert der Probe: 7,9

Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

Bezeichnung der Probe: F₄

Name des Gewässers: Alb
Ort: 7505 Ettlingen; Wasenbrücke
Entnahmestelle: rechtes Flußufer in 10 cm Tiefe.
Datum: 2.02.1992
Uhrzeit: 15.00 Uhr
Volumen: 1 l
Probenahmeart: manuell

Wahrnehmungen am Ort der Probenahme:

Trübung: n.w.

Lufttemperatur: 7°C

pH-Wert der Probe: 7,1

Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

Bezeichnung der Probe: F₅

Name des Gewässers: Murg
Ort: 7560 Gaggenau; Brücke in Stadtmitte
Entnahmestelle: rechtes Flußufer in 10 cm Tiefe.
Datum: 2.02.1992
Uhrzeit: 9.40 Uhr
Volumen: 1 l
Probenahmeart: manuell

Wahrnehmungen am Ort der Probenahme:

Trübung: n.w.

Lufttemperatur: 5°C

pH-Wert der Probe: 6,7

Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

Bezeichnung der Probe: F₆

Name des Gewässers: Beierbach
Ort: 7505 Ettlingen-Schluttenbach; Lindenbrunnen, Ortsmitte
Entnahmestelle: Brunnenarmatur
Datum: 2.02.1992
Uhrzeit: 8.45 Uhr
Volumen: 1 l
Probenahmeart: manuell

Wahrnehmungen am Ort der Probenahme:

Trübung: n.w.

Lufttemperatur: 4°C

pH-Wert der Probe: 5,5

Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

III. Stehende Gewässer

Verfahren: DEV-DIN 38 402-A12

Bezeichnung der Probe: S₁

Kennzeichnung der Probenahmestelle: Baggersee in 7502 Malsch-Neumalsch; Westufer in
20 cm Tiefe

Datum: 2. 02. 1992

Uhrzeit: 10.30 Uhr

Volumen: 1 l

Probenahmeart: Einzelprobe

Wahrnehmungen am Ort der Probenahme: Eisdecke ohne Schneeauflage
Trübung durch Bodenpartikel

Wetterverhältnisse:

Lufttemperatur: 3° C Wolkenbedeckung: 5 %

pH-Wert der Probe: 7,5

Konservierung: Aufbewahrung bei 4°C

Anhang A2: Kalibrierung, Meß- und Regressionsdaten verschiedener Sensoren

Die Durchflußrate betrug bei allen Messungen ca. 3 ml/Min..

Es bedeuten: Nitrat: vorgegebene Nitratkonzentration
 Nitrat ber.: berechnete Nitratkonzentration
 E : Extinktion bei 612 nm

Sensor 1: Kalibrierung					
Anzahl der Eichpunkte: 9					
Kalibrationsdaten:					
Zeit [Min.]	$c_{\text{NO}_3^-}$ [mg / l]	$\sqrt{c_{\text{NO}_3^-}}$ [mg / l] ^{1/2}	E	1/E	$c_{\text{NO}_3^-}$ ber. [mg / l]
0	0,0	0,00	0,2443	4,093	0,0
10	5,0	2,24	0,2186	4,574	4,7
30	10,0	3,16	0,2084	4,799	9,9
50	15,0	3,87	0,2012	4,971	15,2
70	20,0	4,47	0,1955	5,116	20,5
90	40,0	6,32	0,1808	5,532	39,9
110	60,0	7,75	0,1706	5,860	59,6
130	80,0	8,94	0,1627	6,148	79,9
150	100,0	10,00	0,1562	6,403	100,3
Regressionsanalyse: Regressionskoeffizient $r = 0.9999$					
b1	b2	b3			
4,00	-8,50	-14,27			

Sensor 2: Kalibrierung

Anzahl der Eichpunkte: 9

Kalibrationsdaten:

Zeit [Min.]	$c_{\text{NO}_3^-}$ [mg / l]	$\sqrt{c_{\text{NO}_3^-}}$ [mg / l] ^{1/2}	E	1/E	$c_{\text{NO}_3^-}$ ber. [mg / l]
0	0,0	0,0	0,2150	4,651	0,0
10	5,0	2,2	0,1920	5,208	4,7
30	10,0	3,2	0,1830	5,464	10,0
50	15,0	3,9	0,1770	5,650	15,0
70	20,0	4,5	0,1720	5,814	20,3
90	40,0	6,3	0,1590	6,289	39,9
110	60,0	7,7	0,1500	6,667	60,1
130	80,0	8,9	0,1430	6,993	80,9
150	100,0	10,0	0,1380	7,246	99,1

Regressionsanalyse:

Regressionskoeffizient $r = 0.9999$

b1	b2	b3
3,72	-3,45	-16,55

Sensor 3: Kalibrierung

Anzahl der Eichpunkte: 7

Kalibrationsdaten:

Zeit [Min.]	$c_{\text{NO}_3^-}$ [mg / l]	$\sqrt{c_{\text{NO}_3^-}}$ [mg / l] ^{1/2}	E	1/E	$c_{\text{NO}_3^-}$ ber. [mg / l]
0	0,0	0,00	0,2700	3,704	0,0
10	15,0	3,87	0,2290	4,367	15,7
30	20,0	4,47	0,2250	4,444	19,5
50	50,0	7,07	0,2040	4,902	50,1
70	60,0	7,75	0,2000	5,000	58,4
90	80,0	8,94	0,1910	5,236	80,9
110	70,0	8,37	0,1950	5,128	70,2

Regressionsanalyse:

Regressionskoeffizient $r = 0.9996$

b1	b2	b3
5,30	-11,16	-16,64

Sensor 4: Kalibrierung

Anzahl der Eichpunkte: 9

Kalibrationsdaten:

Zeit [Min.]	$c_{\text{NO}_3^-}$ [mg/l]	$\sqrt{c_{\text{NO}_3^-}}$ [mg/l] ^{1/2}	E	1/E	$c_{\text{NO}_3^-}$ ber. [mg/l]
0	0,0	0,0	0,2388	4,188	0,0
10	5,0	2,2	0,2126	4,704	4,6
30	10,0	3,2	0,2022	4,946	9,8
50	15,0	3,9	0,1948	5,133	15,2
70	20,0	4,5	0,1894	5,280	20,2
90	40,0	6,3	0,1740	5,747	41,0
110	60,0	7,7	0,1646	6,075	59,9
130	80,0	8,9	0,1572	6,361	79,3
150	100,0	10,0	0,1508	6,631	100,1

Regressionsanalyse:

Regressionskoeffizient $r = 0.9998$

b1	b2	b3
4,06	-0,19	-16,95

Sensor 4: Nitratbestimmung

Anzahl der Meßwerte: 24

Datenprotokoll:

Zeit [Min.]	$c_{\text{NO}_3^-}$ [mg / l]	$\sqrt{c_{\text{NO}_3^-}}$ [mg / l] ^{1/2}	E	1/E	$c_{\text{NO}_3^-}$ ber. [mg / l]
170	5,0	2,2	0,2124	4,708	4,8
190	10,0	3,2	0,2018	4,955	10,5
210	15,0	3,9	0,1952	5,123	15,7
230	20,0	4,5	0,1896	5,274	21,3
250	40,0	6,3	0,1760	5,682	40,7
270	60,0	7,7	0,1664	6,010	61,1
290	80,0	8,9	0,1598	6,258	79,4
310	100,0	10,0	0,1542	6,485	98,3
330	5,0	2,2	0,2116	4,726	5,2
350	10,0	3,2	0,2020	4,950	10,4
370	15,0	3,9	0,1954	5,118	15,5
390	20,0	4,5	0,1898	5,269	21,0
410	40,0	6,3	0,1762	5,675	40,3
430	60,0	7,7	0,1676	5,967	58,1
450	80,0	8,9	0,1610	6,211	75,7
470	100,0	10,0	0,1554	6,435	94,0
490	5,0	2,2	0,2128	4,699	4,7
510	10,0	3,2	0,2032	4,921	9,6
530	15,0	3,9	0,1956	5,112	15,3
550	20,0	4,5	0,1910	5,236	19,8
570	40,0	6,3	0,1774	5,637	38,2
590	60,0	7,7	0,1678	5,959	57,7
610	80,0	8,9	0,1612	6,203	75,2
630	100,0	10,0	0,1566	6,386	89,8