

KfK 4811  
Februar 1991

**Untersuchungen an  
immobilisierten  
Porphyrinderivaten zur  
Entwicklung Cadmium-sensitiver  
Schichten für einen  
optisch-chemischen Sensor**

R. Czolk  
Institut für Radiochemie  
Projekt Schadstoffbeherrschung in der Umwelt

**Kernforschungszentrum Karlsruhe**



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

KfK 4811

**Untersuchungen an immobilisierten Porphyrinderivaten  
zur Entwicklung Cadmium-sensitiver Schichten  
für einen optisch-chemischen Sensor**

Rüdiger Czolk

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

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE GMBH, KARLSRUHE**

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

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH  
Postfach 3640, 7500 Karlsruhe 1

ISSN 0303-4003

## Zusammenfassung

Für die Entwicklung optischer, chemischer Sensoren, die auf der spektralen Änderung immobilisierter Indikatoren basieren, muß der verwendete Farbstoff bestimmte Eigenschaften haben, wie z.B. eine hinreichend schnelle, sensitive und selektive Reaktion mit dem entsprechenden Analyten. Außerdem sollte er über funktionelle Gruppen verfügen, die nicht identisch mit den für die Komplexbildung notwendigen sind. Ziel dieser Arbeit war es, einen optischen, chemischen Sensor, der reversibel Cadmium detektiert, durch Immobilisierung eines Reagensfarbstoffes auf oder in einer polymeren Matrix zu entwickeln. Mit Hilfe des wasserlöslichen 5,10,15,20-*meso*-Tetra(p-sulfophenyl)porphyrin (TPPS) wurde zunächst ein photometrischer Nachweis auf Cadmium(II)-Ionen in wässriger, alkalischer Lösung entwickelt (pH = 9,0; Komplexierungsdauer: 20 Minuten; Nachweisgrenze:  $c_{\text{Grenz}} = 6 \cdot 10^{-8}$  mol/l). Aufgrund der spektroskopisch unterschiedlichen Absorptionsspektren verschiedener Metallkomplexe kann die Selektivität des Cadmiumnachweises durch den Einsatz eines statistischen Auswerteverfahrens verbessert werden. Das Porphyrinderivat hat für die Immobilisierung an eine polymere Matrix gute Voraussetzungen, da zur Komplexbildung die funktionellen Gruppen im Innern des Porphyrinrings dienen, während die Immobilisierung über andere funktionelle Gruppen erfolgt. Damit wird die Reaktionsfähigkeit des Indikators nicht beeinträchtigt. Für die Herstellung der sensitiven Schicht des optischen, chemischen Sensors wurde pulverförmiges VA-Epoxy - ein quervernetztes Poly(vinylacetat) mit Oxiranringen als funktionelle Ankergruppen - und Poly(vinylchlorid) ausgewählt. Das entwickelte Verfahren bei der Herstellung der Sensoren mit VA-Epoxy-Pulver (VA-Sensoren) gewährleistet eine gute Reproduzierbarkeit (Abweichung: 6,2 %;  $n = 6$ ). Bei Anbindung des TPPS über ein spacer-Molekül (1,3-Diaminopropan) ist die Ansprechzeit des VA-Sensors mit der Komplexierungsdauer in wässriger Lösung vergleichbar. Die Standzeit beträgt ca. 7 Tage (Abnahme der Intensität des Absorptionsspektrums um 7,1 %). Die Cadmiumkomplexbildung ist reversibel. Das pH-Optimum der Komplexbildung ist in den alkalischen Bereich verschoben. Die Nachweisgrenze des Sensors beträgt  $c_{\text{Grenz}} = 13 \mu\text{mol/l}$ . Auch der immobilisierte Farbstoff zeigt die in wässriger Lösung erhaltenen charakteristischen Absorptionsspektren verschiedener Metallspezies. Die Löslichkeit von Poly(vinylchlorid) (PVC) in Tetrahydrofuran ermöglicht es, Membranen herzustellen. Bei der Herstellung stabiler PVC-Schichten auf Glasträgern wurden Schichtdicken von  $< 10 \mu\text{m}$  mit einer Reproduzierbarkeit von 82,6 % ( $n = 26$ ) erreicht. Die Standzeit der PVC-Schichten, die das hydrophobe 5,10,15,20-*meso*-Tetraphenylporphyrin (TPP) enthalten (PVC-Sensoren), liegt bei ca. 12 Tagen. Die Ansprechzeit beträgt über 8 Stunden. PVC-Sensoren mit dem hydrophilen TPPS als Reagensfarbstoff zeigen schon oberhalb pH = 6,5 ein konstantes Cadmiumsignal und erreichen die als Ziel gesetzte Ansprechzeit von 20 Minuten. Die Nachweisempfindlichkeit beträgt  $c_{\text{Grenz}} = 1,9 \cdot 10^{-5}$  mol/l. Allerdings ist die Standzeit durch den Austrag des Indikators auf ca. 8 Stunden terminiert.

## Studies on immobilized porphyrinderivatives for the development of cadmium-sensitive layers to be used in an optical-chemical sensor

### Abstract

To develop optical-chemical sensors based on the spectral changes of an immobilized indicator, the used dye has to possess certain properties like a fast, sensitive and selective reaction with the analyte. Furthermore the functional groups required for complexation should not be identical with the immobilizing groups. The aim of this work was to develop an optical-chemical sensor for the reversible detection of cadmium by immobilizing a reagent dye onto or into a polymeric matrix. Using the water-soluble 5,10,15,20-*meso*-tetra(*p*-sulfonatophenyl)porphyrin (TPPS), a spectrophotometric method was developed for the detection of cadmium(II)-ions in aqueous, alkaline solutions (pH = 9,0; duration of complexation: 20 minutes; detection limit:  $c_{\min} = 6 \cdot 10^{-8}$  mol/l). As a result of the different absorption spectra of various metal-porphyrin species selectivity is increased when statistical evaluation methods are used. Complexation occurs in the centre of the porphin while other functional groups are needed for the immobilization. Therefore the reactivity of the dye is not influenced by immobilization. VA-Epoxy - a cross-linked poly(vinyl acetate) - and poly(vinyl chloride) were used as polymeric matrices. The absorbance of six different sensors produced with the VA-Epoxy-powder shows a standard deviation of 6.2 %. TPPS is immobilized with a spacermolecule (1,3-diaminopropane). The response time is about the same as in an aqueous solution. Complexation is reversible. The long-term stability is about 7 days (decrease in absorbance by 7.1 %). The optimum pH-value for the complexation is shifted into the alkaline region. The detection limit of the sensor is  $c_{\min} = 13 \mu\text{mol/l}$ . The immobilized dye also shows the characteristic absorption spectra of various metal-porphyrin-complexes. Due to the solubility of poly(vinyl chloride) (PVC) in tetrahydrofuran, sensing membranes can be fabricated. The thickness of the produced PVC-layers on a glassplatelet was less than 10  $\mu\text{m}$  (standard deviation: 17.4 %;  $n = 26$ ). Sensors with the hydrophobic 5,10,15,20-*meso*-tetraphenylporphyrin (TPP) have a long-term stability of 12 days and a response time of more than 8 hours. Sensors with the hydrophilic TPPS attain a response time of about 20 minutes and show a constant absorbance of the cadmium-complex already above pH = 6.5. The detection limit is  $c_{\min} = 1.9 \cdot 10^{-5}$  mol/l. The long-term stability is limited by the leaching of the dye.

## INHALTSVERZEICHNIS:

	Seite
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Aufgabenstellung</b>	<b>5</b>
<b>3. Einführung in die Thematik</b>	<b>7</b>
3.1. Spektroskopische Analysemethoden	7
3.1.1. UV/VIS-Spektralphotometrie	7
3.1.2. Reflexionsspektroskopie	8
3.1.3. Fluorimetrie	10
3.1.4. Einsatz von Komplexbildnern	11
3.2. Porphyrine	12
3.2.1. Spektrales Verhalten	12
3.2.1.1. Allgemeines	12
3.2.1.2. Theoretische Interpretation der Absorptionsspektren	14
3.2.2. Komplexbildung	16
3.2.3. Analytische Anwendung von Porphyrinen	20
3.3. Faseroptische chemische Sensoren	21
3.3.1. Definition	21
3.3.2. Faseroptik	23
3.3.3. Matrices und Immobilisierung	24
3.3.4. Apparativer Aufbau	25
3.3.5. Mathematische Beschreibung	27
3.3.6. In der Literatur beschriebene Optroden	30
3.3.7. Wirkungsweise der Simon'schen Optroden	31
<b>4. Experimenteller Teil</b>	<b>35</b>
4.1. Chemikalien und Reagenzien	35
4.1.1. Farbstoffe	35
4.2. Probelösungen	37
4.2.1. Wässrige Stammlösungen	37
4.2.2. Pufferlösungen	37
4.2.3. Organische Lösungen	38

4.3. Immobilisierung und Sensorherstellung	38
4.3.1. VA-Epoxy-Schichten	38
4.3.1.1. Beschreibung der Matrix	38
4.3.1.2. Immobilisierung der Farbstoffe	39
4.3.1.3. Sensorherstellung	41
4.3.2. Poly(vinylchlorid)-Membranen	42
4.3.2.1. Zusammensetzung der Membran	42
4.3.2.2. Sensorherstellung	43
4.4. Absorptions-/Reflexionsmessung	45
4.4.1. Apparatives	45
4.4.2. Durchführung der spektroskopischen Messungen	47
4.5. Fehlerbetrachtung	48
<b>5. Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>53</b>
5.1. Photometrischer Nachweis von Cadmium	53
5.2. Orientierende Experimente zur Wahl der Matrix und der Immobilisierungstechnik	62
5.2.1. VA-Epoxy	65
5.2.2. Poly(vinylchlorid)	65
5.3. VA-Sensoren	66
5.3.1. Messung in Lösung	67
5.3.2. Messung des immobilisierten Farbstoffs	70
5.4. PVC-Sensoren	83
5.4.1. Simulierende Messungen in Lösung	84
5.4.2. Messung der verschiedenen PVC-Sensoren	86
5.4.2.1. Sensoren mit counter-Transport	86
5.4.2.2. Sensoren mit co-Transport	88
<b>6. Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>95</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>101</b>

<b>8. Anhang</b>	<b>107</b>
A1) Abkürzungen	107
A2) Berechnung der für eine Potentialänderung von 59 mV notwendigen Zahl an Ladungsträgern	108
A3) $t_{n,\alpha}$ -Werte der Student-t-Verteilung	109
A4) Ergebnisse der Berechnung mit dem Auswerte- programm FACTANAL	110
A5) Poly(vinylalkohol)-Sensoren	111
a) Beschreibung der Matrix	111
b) Immobilisierung des Farbstoffs	111
c) Fluoreszenzmessung	111
A6) Gleichungen der Regressionsgeraden einzelner Sensoren	112
a) VA-Sensoren	112
b) PVC-Sensoren (co-Transport)	112

## 1. EINLEITUNG

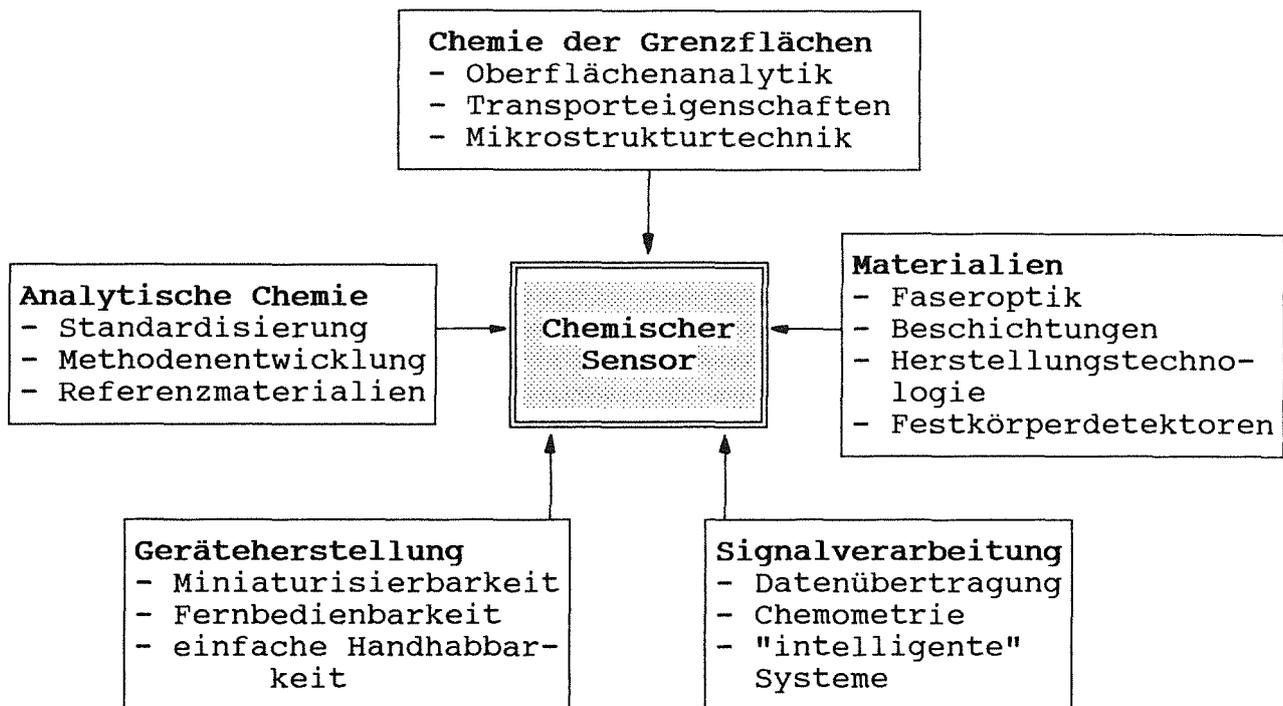
Chemische Sensoren gewinnen in der analytischen Chemie zunehmend an Bedeutung. Als chemischer Sensor wird eine Meßeinrichtung bezeichnet, die den chemischen Zustand einer Probe (z.B. Konzentration oder Partialdruck) erfaßt und als elektrisches Signal abbildet. Auf den verschiedensten Gebieten wie z.B. der Prozeßmeßtechnik, der klinischen Diagnostik oder der Umweltanalytik dürften sich künftig eine Vielzahl von Einsatzmöglichkeiten für chemische Sensoren eröffnen.

In der Umweltanalytik würde die Entwicklung einfacher, schneller und preiswerter Sensoren mit hinreichender Genauigkeit und Standzeit eine kontinuierliche und flächendeckende Überwachung ermöglichen. Es wäre auch denkbar und wünschenswert mit Hilfe einer sensorgestützten Prozeßkontrolle und -steuerung Umweltbelastungen durch verminderte Emissionen bei Produktions- oder Verbrennungsprozessen zu reduzieren.

Durch die Fortschritte der analytischen Verfahren (gekoppelte Analysenmethoden, verbesserte Trennverfahren, Laborautomation etc.) stehen dem Analytiker zuverlässige und sensitive Methoden zur Verfügung, um umweltbelastende Stoffe zu erfassen und deren Eigenschaften zu untersuchen. Eine vollständige chemische Analyse ist bei vielen Proben oft nicht unbedingt erforderlich oder durchführbar, da sie zudem sehr kosten- und zeitintensiv wäre. Eine kontinuierliche Bestimmung einiger weniger Substanzen oder Summenparameter an bestimmten Punkten dürfte in vielen Fällen ausreichend sein.

Zum Beispiel könnten bei Anwendung spektroskopischer Analysetechniken mehrere Meßstellen von einem zentralen Spektrometer aus mit Hilfe von Lichtleitern und entsprechenden optischen Sensoren überwacht werden. Der Transfer der Probe zum Spektrometer ent-

fiele - "das Spektrometer kommt zur Probe". Durch die Verbesserung der Transmissionseigenschaften von Lichtleitfasern im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums wurde es möglich, konventionelle, spektroskopische Analysemethoden (Fluorimetrie, Absorptionsphotometrie) zur Fernüberwachung ("remote-sensing") einzusetzen. Die dafür u.a. notwendige Verarbeitung großer Datenmengen ist durch den heutigen Entwicklungsstand der Computertechnik gegeben.



**Abb. 1: Interdisziplinäre Entwicklung von Chemischen Sensoren**

Chemische Sensoren sollten preisgünstige und zuverlässige Meßwertempfänger sein, die klein und robust sind, und eine hinreichende Genauigkeit aufweisen. Diese anspruchsvollen Spezifikationen erfordern bei der Entwicklung solcher Systeme die Zusammenarbeit der verschiedensten Fachrichtungen.

Das erste und damit entscheidende Glied bei dieser sogenannten "in-line-Analytik" stellt der eigentliche Meßwertempfänger, der chemische Sensor, dar. Bis auf wenige Ausnahmen sind heute noch

keine einsatzfähigen, Chemischen Sensoren verfügbar, die die hohen Anforderungen erfüllen, die an sie gestellt werden. So sollen sie u.a. klein, preisgünstig, zuverlässig und robust sein, wobei eine verglichen mit Laborgeräten reduzierte Genauigkeit in Kauf genommen werden würde. Abbildung 1 verdeutlicht Einflüsse und Zusammenwirken verschiedener Forschungsrichtungen, die zur Entwicklung chemischer Sensoren beitragen.

Die entscheidende Komponente eines chemischen Sensors ist die sog. "sensitive Schicht", die durch Wechselwirkung mit einem Analyten in der Probe in Abhängigkeit von der chemischen Umgebung ihre physikalischen Eigenschaften ändert. Dies können z.B. elektrische, thermische, magnetische oder optische Parameter sein.

In Tabelle 1 sind exemplarisch einige Sensorarten aufgelistet, und die physikalischen Eigenschaften angegeben, die sich in Folge der Wechselwirkung ändern.

*Tabelle 1: Konzepte Chemischer Sensoren*

Detektierte Eigenschaft	Geeigneter Sensor
Masse	Surface-Acoustic-Wave(SAW) Sensor Piezokristall (Quarz)
Potential	Chemischer Feldeffekttransistor (ChemFET) Ionensensitive Elektrode
Wärme	Thermistor
Optische Eigenschaft	Optrode Evanescent-Wave-type Sensor
Strom	Amperometrische Elektrode
Leitfähigkeit	Halbleiter, Ionenleiter Chemiresistor

Bei den in der Tabelle aufgeführten sogenannten "Optroden" - faseroptische, chemische Sensoren - besteht die sensitive Schicht, die am Ende eines Lichtleiters angebracht wird, meist aus einem

an eine polymere Matrix gebundenen Reagensfarbstoff. Der Gebrauch von Lichtleitern in Kombination von Leuchtdioden, Photodioden und/oder Multiplexern eröffnet die Möglichkeit, preiswerte Aufbauten zu realisieren. Die faseroptischen, chemischen Sensoren könnten vor allem potentiometrische Sensoren (z.B. ionensensitive Elektroden) ergänzen oder z.T. sogar ersetzen. Verglichen mit jenen bieten sie u.a. den Vorteil, kein Referenzelement zu benötigen, eine Driftkorrektur mit Hilfe eines Mehrwellenlängenverfahrens zu ermöglichen und einen erhöhten Informationsgehalt (Spektrum) zu besitzen.

Bei ionenselektiven Elektroden besteht die sensitive Schicht in der Regel aus makroskopischen Membranen mit einem großen Reservoir an Reagens. Sollen für bestimmte Anwendungen diese Systeme miniaturisiert werden, so müssen die Eigenschaften und limitierenden Parameter der sensitiven Schicht bekannt sein. Ein Problem stellt beispielsweise bei mikroskopischen Aufbauten die geringe Menge an vorhandenem Reagens dar. Ein minimaler Verlust an Reagens bei Kontakt mit der Probenlösung würde sich als äußerst störend auswirken. Ähnliches gilt für die Entwicklung faseroptischer, chemischer Sensoren. Auch hier ist zunächst erforderlich, die sensitive Schicht an makroskopischen Strukturen grundlegend zu charakterisieren, wobei Einflüsse und Parameter, die die Selektivität, Sensitivität und (photochemische) Stabilität bedingen, zu bestimmen sind.

## 2. AUFGABENSTELLUNG

Kernstück eines jeden Sensors ist, wie erwähnt, die "sensitive Schicht", die bei den faseroptischen, chemischen Sensoren aus einem immobilisierten Reagensfarbstoff besteht.

Ziel dieser Arbeit ist es, zu untersuchen, welche Matrices und Farbstoffe für die Entwicklung eines optischen, chemischen Sensors, der für die Detektion umweltbelastender Schwermetall-Ionen in Gewässern von Interesse wäre, geeignet sind. Exemplarisch sollten die Untersuchungen in Hinblick auf einen Cadmium-sensitiven Sensor durchgeführt werden.

In der Literatur wurden einige faseroptische, chemische Sensoren beschrieben, die darauf basieren, daß sich die Fluoreszenzeigenschaften der sensitiven Schicht ändern. In der vorliegenden Arbeit sollte überprüft werden, bis zu welchen Grenzen Absorptionsindikatoren einsetzbar sind.

Für eine technische Realisierung dieser Sensoren sollte die verwendete Immobilisierungsreaktion einfach sein und eine reproduzierbare Sensorherstellung gewährleisten. Die Fixierung der verwendeten Indikatoren auf der Matrix sollte vorrangig chemisch sein. Die Einflüsse einer chemischen Immobilisierung auf die Nachweisreaktion sind daher zu untersuchen. Es muß festgestellt werden, inwieweit sich die Eigenschaften des immobilisierten Indikators gegenüber denen in Lösung ändern. Vergleichende Messungen mit gelöstem und mit auf einer Matrix immobilisiertem Farbstoff sollten darüber Aufschluß geben. Von weiterem Interesse ist die Untersuchung des Komplexierungsverhalten des immobilisierten Farbstoffs in bezug auf Komplexierungszeit, Empfindlichkeit und Selektivität.



### 3. EINFÜHRUNG IN DIE THEMATIK

#### 3.1. Spektroskopische Analysemethoden

##### 3.1.1. UV/VIS-Spektralphotometrie

Bei der Absorptionsspektroskopie im Ultravioletten (UV) und Sichtbaren (VIS) werden Energiedifferenzen ausgenutzt, die denen der Elektronenzustände in Atomen und Molekülen entsprechen. Man spricht deshalb auch von "Elektronenanregungsspektren".

Das der Spektralphotometrie als quantitative Analysenmethode zugrundeliegende Gesetz ist das Lambert-Beer'sche-Gesetz. Es beschreibt den Sachverhalt, daß die Schwächung der Intensität eines durch ein homogenes Medium hindurchgehenden Lichtstrahls abhängt von der Zahl der absorbierenden Teilchen, mit denen der Strahl zusammentrifft, und von den spezifischen spektralen Eigenschaften dieser Teilchen. Sie ist also von der Schichtdicke des absorbierenden Stoffes und von dessen Konzentration abhängig und wird außerdem noch durch die Temperatur beeinflusst. Die Lichtschwächung ist für unterschiedliche Wellenlängen ( $\lambda_i$ ) des einstrahlten Lichts verschieden stark. Da dieser Effekt von den Eigenschaften (= Energiezustände) des absorbierenden Teilchens abhängt, ergibt sich ein für das Teilchen charakteristisches Absorptionsspektrum. Es gilt:

$I_t$  = Intensität des transmittierten  
Lichts

$I_0$  = Intensität des eintretenden Lichts

$$(1) \quad I_t = I_0 \cdot e^{-k \cdot c \cdot d}$$

$k$  = Proportionalitätsfaktor

$c$  = Konzentration

$d$  = Schichtdicke

Durch Umformen erhält man:

$$(2) \quad E(\lambda_i) = -\lg I_t/I_0$$

$$= \epsilon(\lambda_i) \cdot c \cdot d$$

E = Extinktion bei der  
Wellenlänge  $\lambda_i$   
 $\epsilon(\lambda_i)$  = molarer Extinktionskoeffizient

Die Proportionalität zwischen der Extinktion und der Konzentration wird im allgemeinen zur quantitativen Bestimmung genutzt. Wenn jedoch in Abhängigkeit von der Konzentration chemische Prozesse auftreten, wie Hydrolyse, Assoziation der Moleküle oder Ionen usw., kann der beschriebene Ansatz nicht mehr gemacht werden.

### 3.1.2. Reflexionsspektroskopie

Das Lambert-Beer'sche Gesetz setzt neben dem oben erwähnten auch Proben voraus, bei denen keine Verluste der Lichtintensität durch Streu- oder Reflexionsvorgänge auftreten. Bei einem stark streuenden oder lichtundurchlässigen Probenkörper wird das auftretende Licht diffus reflektiert. Das Reflexionsvermögen hängt auch vom Absorptionsverhalten ab (vgl. Farbigkeit von Körpern), d.h. der Remissionsgrad ist abhängig von der Wellenlänge des einfallenden Lichtes.

Kubelka und Munk [1] behandelten dieses Problem theoretisch unter der Annahme, daß das Remissionsvermögen eines Körpers in erster Näherung als Funktion des Absorptionskoeffizienten ' $\beta$ ' und Streukoeffizienten ' $s$ ' dargestellt werden kann.

$$(3) \quad F(R_\infty) = (1-R_\infty)^2/2R_\infty$$

$$= 2\beta/2s$$

F( $R_\infty$ ) = Kubelka-Munk-Funktion  
 $R_\infty$  = diffuses Remissionsvermögen  
 $\beta$  = Absorptionskoeffizient  
 $s$  = Streukoeffizient

Bei dieser Theorie wird von einer unendlichen Probendicke ausgegangen. Der Streukoeffizient 's' läßt sich nach [2] mit Hilfe von Gleichung (4) und (5) berechnen.

$$(4) \quad s \cdot d = 1/(2b) \cdot (\text{arc sinh } b/T + \ln R_{\infty}) \quad d = \text{Schichtdicke}$$

$$T = \text{Transmission}$$

$$(5) \quad b = 1/2 (1/R_{\infty} - R_{\infty})$$

Da die für die Anwendung der Reflexionsspektroskopie wichtige Größe  $R_{\infty}$  mit den üblichen Geräten nicht absolut gemessen werden kann, bezieht man die diffuse Reflexion stets auf einen Weißstandard ( $\text{MgO}$ ,  $\text{BaSO}_4$ ) [3]. In der Praxis verwendet man sogenannte Remissionsmodule, die innen mit  $\text{MgO}$  oder  $\text{BaSO}_4$  beschichtet sind, und denen die Aufgabe zukommt, das diffus reflektierte Licht von Probe und Standard zu integrieren (sog. Integrationskugel oder "Ulbricht'sche Kugel").

Der für die analytische Anwendung notwendige Zusammenhang zwischen Remission und Konzentration ist durch folgende Gleichung gegeben.

$$(6) \quad F(R_{\infty}) = \frac{\epsilon \cdot c}{2 \cdot s}$$

$F(R_{\infty}) =$  Kubelka-Munk-Funktion  
 $\epsilon =$  molarer Extinktionskoeffizient  
 $c =$  Konzentration  
 $s =$  Streukoeffizient

Auch dieses Gesetz ist wie das Lambert-Beer'sche-Gesetz nur für hohe Verdünnungen gültig. Trägt man die Differenz der relativen Remissionsvermögen  $\Delta R_{\infty}'$  einer Probe mit und ohne absorbierende Spezies gegen die Wellenlänge des reflektierten Lichtes auf, so kann diese als Maß für die Absorption der an der Matrix gebundenen Substanz benutzt werden [4]. Dabei sei vorausgesetzt, daß der Streukoeffizient des absorbierenden Stoffes von der Wellenlänge nicht oder nur wenig abhängt.

### 3.1.3. Fluorimetrie

Ein angeregtes Atom oder Molekül hat die Möglichkeit, aus dem elektronisch angeregten Zustand in den Grundzustand unter Emission eines Lichtquants zu gelangen (Fluoreszenz). Um diesen Effekt für eine analytische Bestimmung nutzen zu können, muß die zu untersuchende Substanz eine inhärente, meßbare Fluoreszenz aufweisen oder durch geeignete Maßnahmen, zum Beispiel Derivatisierung, fluoreszenzfähig gemacht werden können [5].

Tatsächlich ist die Zahl der organischen und anorganischen Verbindungen mit inhärenter, meßbarer Fluoreszenz sehr viel geringer als die Zahl der nichtfluoreszierenden Verbindungen. Erreicht man aber die erwähnte Fluoreszenzmarkierung (Derivatisierung) - z.B. in der Analytik durch Komplexbildung nichtfluoreszierender Ionen mit Fluoreszenzfarbstoffen - so steht mit der Fluorimetrie eine analytische Methode zur Verfügung, bei der extrem hohe Nachweisempfindlichkeiten erreicht werden können. Zugleich erhält man eine hohe Selektivität, die zum Teil im Fluoreszenzphänomen selbst, zum Teil in der Instrumentation und der Art der Durchführung fluorimetrischer Analysen begründet ist. Zum Beispiel kann man Bedingungen realisieren, unter denen von 'n' in der Mischung anwesenden Komponenten nur eine zur Fluoreszenz angeregt bzw. das Signal von nur einer Komponente empfangen wird.

Die Fluoreszenz 'F' einer Lösung ist proportional der Quantenausbeute (Verhältnis von emittierten zu absorbierten Photonen) und der Anregungsintensität. Es gilt:

$$(7) \quad F = \Phi_F \cdot (I_0 - I_t)$$

F = Fluoreszenzintensität  
Φ = Quantenausbeute  
I<sub>0</sub> = Anregungsintensität  
I<sub>t</sub> = Intensität des transmittierten Lichts

Durch Verknüpfen von Gleichung (7) mit dem Lambert-Beer'schen-Gesetz (Gleichung (1)) erhält man:

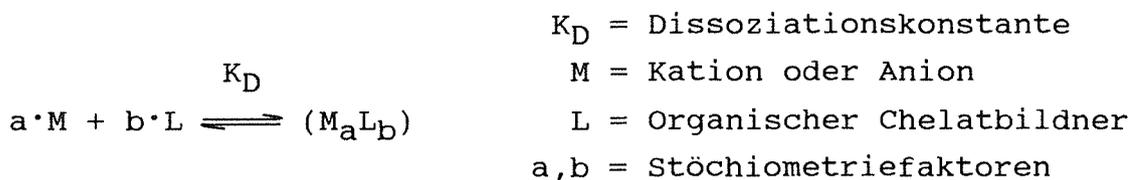
$$(8) \quad F = \Phi_F \cdot I_0 \cdot (1 - e^{-\epsilon \cdot c \cdot d})$$

c = Konzentration  
d = Schichtdicke

#### 3.1.4. Einsatz von Komplexbildnern

Die Möglichkeiten, spektrophotometrische Methoden zur direkten Bestimmung von anorganischen Ionen in einer Probe zu nutzen, sind begrenzt. Dies kommt daher, daß nur wenige einfache anorganische Ionen oder Moleküle eine genügend starke Absorption im UV/VIS-Bereich vorweisen. Von diesen wären Ionen der Übergangsmetalle und der Seltenerdmetalle zu nennen. Die molaren Extinktionskoeffizienten decken einen Bereich von 0,1-1000 l·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup> ab [6]. Zieht man die charge-transfer-Komplexe mit Anionen (z.B. CN<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>) in die Betrachtung mit ein, kann man  $\epsilon$ -Werte bis 10.000 erhalten.

Wenn jedoch Spurenelemente in extrem niedriger Konzentration bestimmt werden sollen, sind Verbindungen mit wesentlich stärkerer Absorption notwendig. Dies erreicht man durch den Einsatz von organischen Komplexbildnern. Auch in der Fluorimetrie werden sie, wie erwähnt, verwendet zur Derivatisierung nichtfluoreszierender Spezies. Man nutzt dabei folgende Gleichgewichtsreaktion aus:



Die Dissoziationskonstante des Komplexes ist durch folgende Gleichung bestimmt:

$$(9) \quad K_D = \frac{[M]^a \cdot [L]^b}{[M_a L_b]}$$

[A] = Konzentration von A  
a, b = Stöchiometriefaktoren

Für die spektroskopische Analyse nutzt man aus, daß der molare Extinktionskoeffizient des Komplexes  $\epsilon_{ML}$  erheblich größer als der des Analyten  $\epsilon_M$  ist, und daß die Bandenmaxima von Komplex und Ligand sich unterscheiden. Bei einer Überlappung der Absorptionsbanden beider Spezies würde die Eigenabsorption des Chelatbildners stören, da dieser in der Regel im Überschuß eingesetzt wird.

### 3.2. Porphyrine

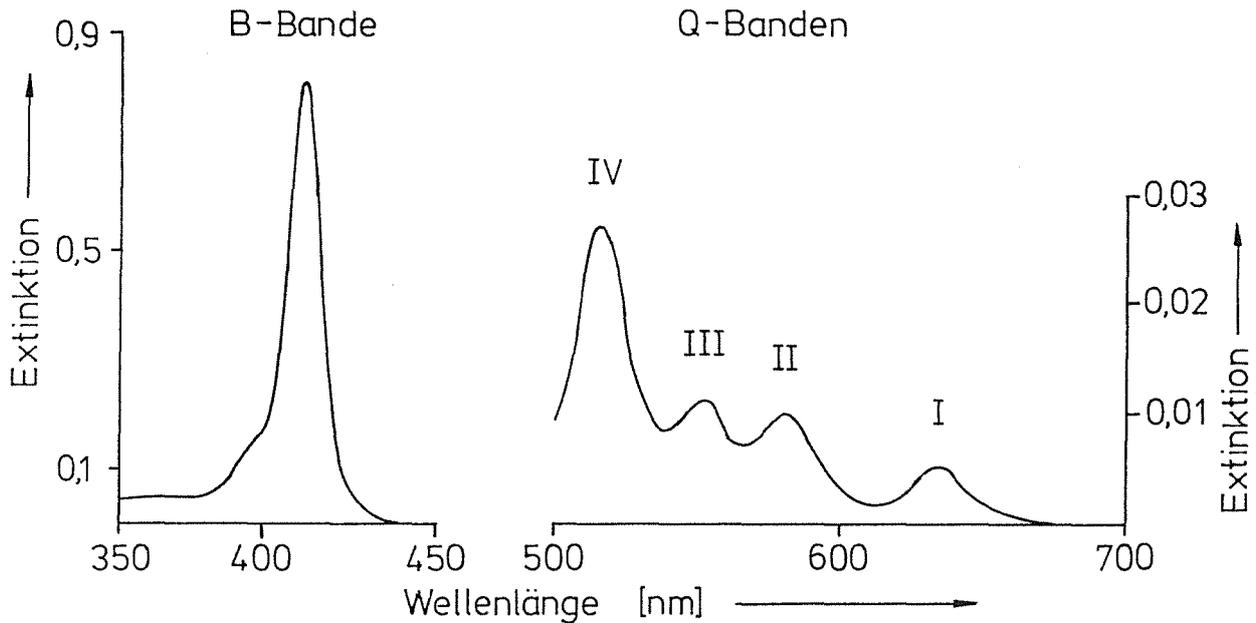
In der vorliegenden Arbeit wurden als Komplexbildner für die Entwicklung eines optischen, chemischen Sensors Porphyrinderivate verwendet. Deshalb sollen in diesem Abschnitt die Eigenschaften dieser Farbstoffklasse beschrieben werden.

#### 3.2.1. Spektrales Verhalten

##### 3.2.1.1. Allgemeines

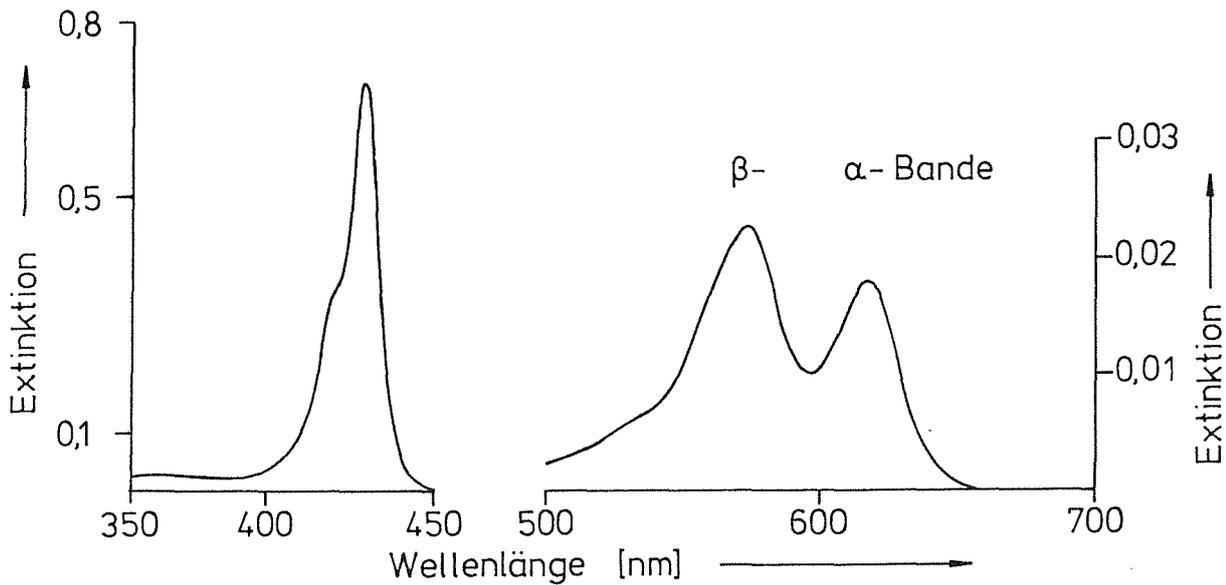
Porphyrine zeichnen sich durch ihre charakteristische Absorption im sichtbaren und ultravioletten Spektralbereich aus (Abbildung 2).

Zwischen 500-700 nm sind dies vier weniger intensive Banden ("Q"-Banden), eine sehr starke Absorption im Bereich von 380-420 nm ("Soret"-Bande [7] oder B-Bande,  $\epsilon \approx 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{l}$ ) und weitere schwache Absorptionen unterhalb 380 nm ("L"-, "M"-, "N"-Banden). Die Soret-Bande ist in der Regel 10-20 mal intensiver als die Banden im Sichtbaren.



**Abb. 2: Charakteristisches Absorptionsspektrum eines metallfreien Porphyrins**

Im Bereich zwischen 380-420 nm weisen Porphyrinderivate eine extrem hohe Absorption auf (sog. "Soret"- oder B-Bande), die um einen Faktor 10-20 intensiver ist als die im Bereich zwischen 500-700 nm auftretenden Absorptionsbanden (Q-Banden; im Spektrum mit I-IV bezeichnet).



**Abb. 3: Absorptionsspektrum eines Metalloporphyrins**

Durch die Komplexierung eines Metallions verändert sich die Symmetrie des Porphyrinliganden, was in einem veränderten Absorptionsverhalten resultiert. Abgebildet ist das Spektrum des Cadmiumkomplexes eines Tetraphenylporphyrinderivates. Die Banden sind gegenüber dem metallfreien Porphyrin (vgl. Abb. 2) bathochrom verschoben. Die Banden I-IV im sichtbaren Spektralbereich reduzieren sich bei den "normalen" (vgl. S. 16) Porphyrinkomplexen auf zwei Banden ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Bande).

Wird das neutrale Porphyrin-Molekül ( $D_{2h}$ -Symmetrie) einer quadratisch-planaren Symmetrie ( $D_{4h}$ ) angenähert durch Protonierung (Dikation), Deprotonierung (Dianion) oder Komplexbildung zweiwertiger Metallionen, so erhält man im sichtbaren Bereich nur noch zwei bathochrom verschobene Hauptbanden (Abbildung 3).

Bei den Metalloporphyrinen werden diese als  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Bande bezeichnet. Die Soret-Bande kann sich dabei ebenfalls verschieben. Durch die Metallinsertion zusätzlich auftauchende Banden sind auf charge-transfer-Übergänge zwischen p- oder d-Orbitalen des Metalls und des  $\pi$ -Systems des Porphyrins zurückzuführen [8]. Gemäß Gouterman [9-11] hängt die Intensität und Wellenlänge der Banden von der Elektronegativität des Zentralmetallatoms ab (mit sinkender Elektronegativität nimmt die Intensität und die Wellenlänge zu). Ebenso beeinflussen Substituenten am Porphyrinkern die Lage der Banden. Bei Tetraarylporphyrinen besitzen Substituenten in der o-Position noch einen gewissen Einfluß auf das Absorptionsverhalten, p-Substituenten hingegen haben nur geringe Auswirkungen [12].

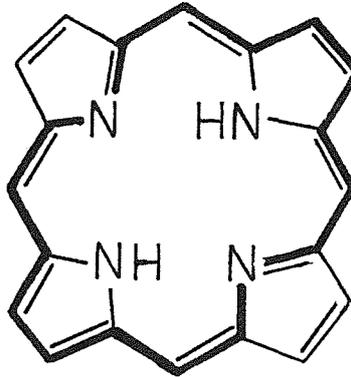
Porphyrine und Metalloporphyrine zeichnen sich weiterhin durch ihre Fluoreszenzeigenschaften aus.

### 3.2.1.2. Theoretische Interpretation der Absorptionsspektren

Der Chromophor eines Porphyrins ist das in Abbildung 4 hervorgehobene 18-gliedrige cyclische Polyen mit 18  $\pi$ -Elektronen.

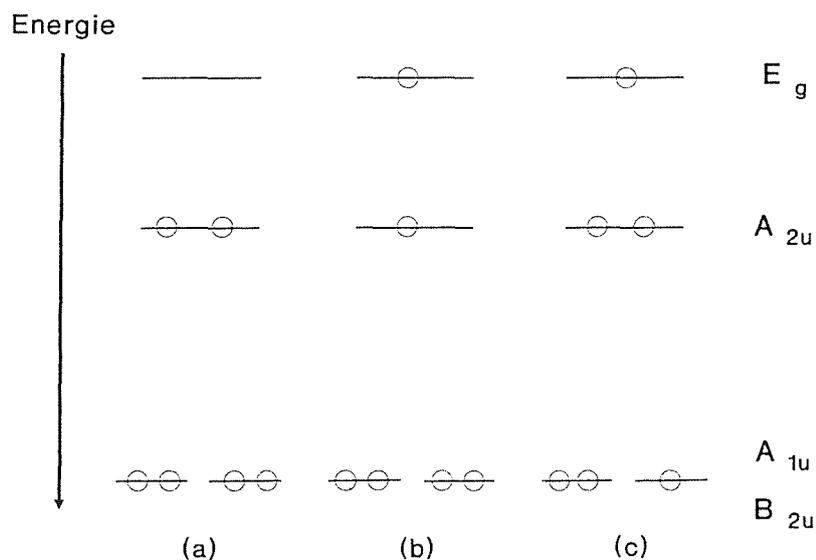
Es entspricht der Hückel-Regel für aromatische Systeme ( $[4n+2]$   $\pi$ -Elektronen;  $n = 1, 2, 3, \dots$ ) und kann als ein Aza-Analoges der [18]-Annulene angesehen werden. Es besitzt also eine ebene Struktur, ebenso seine Derivate. Durch die Delokalisation der  $\pi$ -Elektronen ist die Energiedifferenz zwischen dem höchsten besetzten Molekülorbital (HOMO) und dem tiefsten unbesetzten (LUMO) klein genug, um durch Absorption von sichtbarem bzw. ultraviolettem

Licht Übergänge zwischen diesen Zuständen zu bewirken ( $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergänge). Die sichtbaren Absorptionsbanden (Q-Banden) sind  $[A_{2u} \rightarrow E_g]$ -Übergängen zuzuschreiben (Abbildung 5).



**Abb. 4: Porphin - der Chromophor des Porphyrins**

Der hervorgehobene 18-gliedrige Ring entspricht einem aromatischen System mit 18  $\pi$ -Elektronen. Die Energiedifferenz zwischen dem höchsten besetzten und tiefsten unbesetzten Molekülorbital (vgl. auch Abb. 5) liegt aufgrund der Delokalisation der  $\pi$ -Elektronen in einem Bereich, der Übergänge zwischen den Zuständen durch Absorption von ultraviolettem oder sichtbarem Licht ermöglicht.



**Abb. 5: Besetzung der Molekülorbitale eines Porphyrins nach Dorough et al. [13]**

Die Soret-Bande resultiert aus einem Übergang vom Grundzustand (a) in den zweiten angeregten Zustand (c);  $[A_{1u} \rightarrow E_g]$ - bzw.  $[B_{2u} \rightarrow E_g]$ -Übergang). Die Q-Banden sind auf Übergänge aus dem Grundzustand in den ersten angeregten Zustand (b) zurückzuführen ( $[A_{2u} \rightarrow E_g]$ -Übergänge).

Das sind Übergänge in den niedrigsten angeregten Singulettzustand. Durch die nicht streng quadratische Struktur ( $D_{2h}$ ) des Moleküls besteht der angeregte  $E_g$ -Zustand aus einem Paar degenerierter Zustände. Diese resultieren aus zwei gleichwertigen, senkrecht aufeinanderstehenden Dipolen [14]. Durch die Reduzierung der Symmetrie spalten sich die Q-Banden in  $Q_x$  (0-0),  $Q_y$  (0-0) (Bande I, III) und die Oberschwingung  $Q_x$  (0-1),  $Q_y$  (0-1) (Bande II, IV) auf. Bei Porphyrinen mit  $D_{4h}$ -Symmetrie entspricht die  $\alpha$ -Bande dem spin-verbotenen (0-0)-Übergang, der von Symmetrieveränderungen aufgrund von Substituenteneffekten am Molekül beeinflusst wird, und die  $\beta$ -Bande dem spin-erlaubten (0-1)-Übergang. Die Soret-Bande (B-Bande) wird durch einen [ $A_{1u} \rightarrow E_g$ ]-Übergang verursacht.

Die Spektren der Metalloporphyrine können sich je nach Art des Zentralatoms unterscheiden und werden in folgende Typen eingeteilt [15]:

- Normale Absorption:

Übergangsmetalle mit  $d^0$ - und  $d^{10}$ -Konfiguration. Porphyrinfluoreszenz wird nicht gestört.

- Hypso-Absorption:

Vor allem bei Metallen mit  $d^m$ -Konfiguration mit  $m = 6-9$ .  
Blau-shift der Absorptionsbanden.

- Hyper-Absorption:

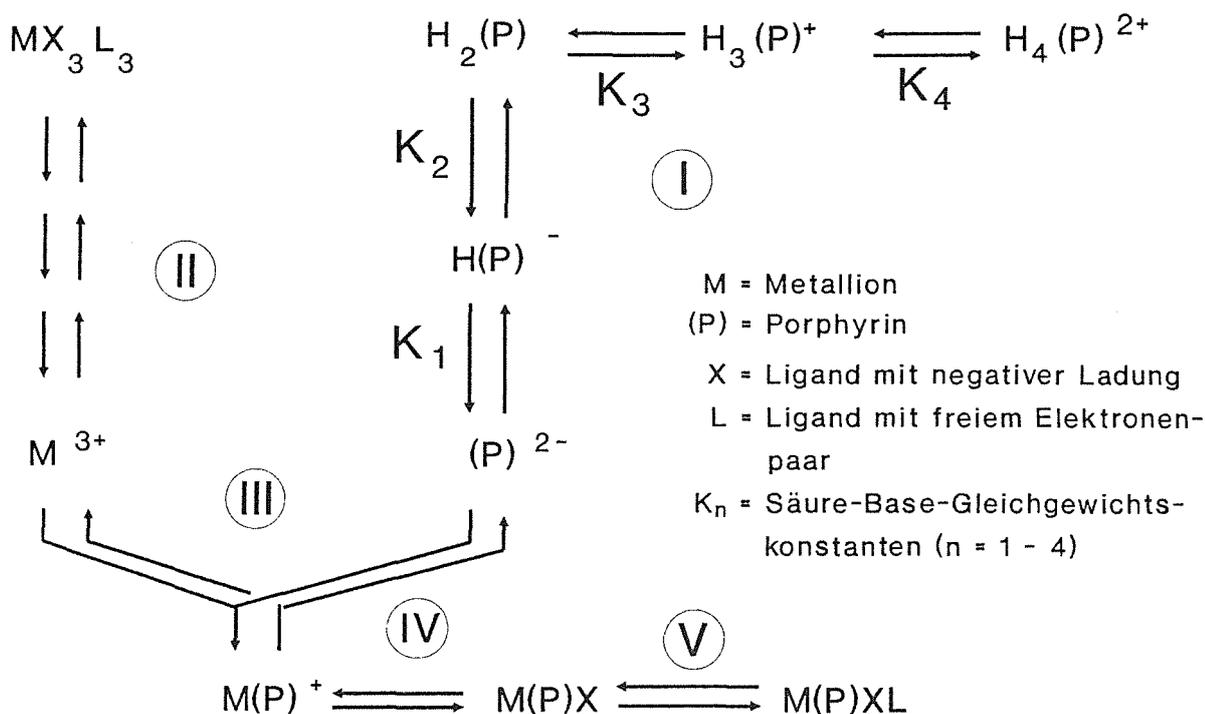
Zusätzliche Absorptionsbanden

### 3.2.2. Komplexbildung

Das Porphyringerüst repräsentiert einen starren, geschlossenen, macrocyclischen Liganden und reagiert als vierzähliger, zweifach negativ geladener Chelatbildner. Porphyrine (im weiteren abgekürzt mit {P}) bilden leicht Komplexe mit einer Vielzahl von Me-

tallionen ( $M^{++}$ ). Dabei werden in der Regel nicht nur die beiden freien Elektronenpaare am Pyrrolenin-Stickstoff der freien Base koordiniert, sondern auch die zwei Protonen an den Pyrollstickstoffatomen ersetzt. Das Metallion reagiert als Lewis-Säure.

Die verschiedenen, an der Komplexierung beteiligten, möglichen Reaktionsschritte sind im folgenden Schema (Abbildung 6) aufgelistet [16]. Dabei werden die eventuellen Änderungen des Oxidationszustandes und die mögliche Bildung von  $M^{++}$ -{P}-Komplexen mit einer (2:1)-Stöchiometrie vernachlässigt.



- I) Protonierung - Deprotonierung des Porphyrins
- II) Entfernen der Solvat- und Ligandensphäre vom Metallion
- III) Bildung der äquatorialen Metall-Stickstoff-Ebene
- IV) Ladungsausgleich
- V) Auffüllen der Koordinationssphäre

**Abb. 6: Reaktionsschema der Komplexierung nach Buchler [16]**

Erläuterung siehe Text.

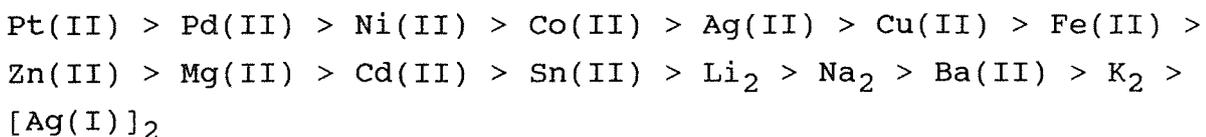
Nachfolgend sollen die einzelnen Schritte näher erläutert werden. Da wie oben erwähnt die Koordination gewöhnlich durch alle vier zentralen Stickstoffatome erfolgt, muß der Porphyrinligand gegebenenfalls Protonen abgeben (Abb. 6/I). Die in dieser Reaktionsfolge zweifach protonierte Spezies wird auch als "freie Base" bezeichnet. Die Kenntnis der relativen Basizität der metallfreien Porphyrine gegenüber dem Proton ist wichtig, um elektronische Effekte auf die Metall-Porphyrin-Reaktivität zu verstehen. So sinkt z.B. die Metallinkorporation mit sinkender Basizität (Rot-shift der Absorptionsbanden), und es entstehen thermodynamisch instabilere Chelate. Der Großteil der Porphyrine liegt bis zu  $\text{pH} = 14$  als freie Base vor. Die Protonenreaktion wird begünstigt, wenn das Produkt eine kleinere positive Nettoladung hat, d.h. negative Substituenten am Porphyrinring erhöhen die offensichtliche Basizität gegenüber Protonen. Allgemein gilt, daß Porphyrine sich wie vierwertige Ampholyte verhalten mit zwei extrem schwachsauren Gruppen und zwei relativ schwach basischen Gruppen ( $2 < \text{pK}_3 < 7$ ;  $0 < \text{pK}_4 < 4$ ) [17]. Für die meisten Porphyrine gibt es keinen großen Unterschied zwischen den beiden basischen Dissoziationsgleichgewichten, so daß das Monokation ( $\text{PH}_3^+$ ) nur in einem kleinen pH-Bereich hauptsächlich vorliegt.

Im planaren, starren Ringsystem des Porphyrinmoleküls zeigen die freien Elektronenpaare der Stickstoffatome nach innen, d.h. für die Komplexierung müssen die Pyrrolringe aus der Ebene gedreht werden. Dadurch können die Elektronenpaare die Bindungsstellen am Metallion erreichen. Das Eindringen des Metallions in das Zentrum des Porphyrinliganden wird außerdem gewährleistet, wenn die umgebende Ligandensphäre des Ions nur schwach gebunden ist. Da für die Bildung der  $\text{M}^{++}\text{-}\{\text{P}\}$ -Bindung (Abb. 6/III) ein Metallion ohne Ligandhülle benötigt wird, muß es über entsprechende Stufen in eine adäquate Form überführt werden (Abb. 6/II). Dieses Entfernen von umgebenden Liganden kann ein entscheidender Schritt bei der Metallinsertion sein.

Bei Metallionen mit einer Ladung  $Z > +2$  muß die überschüssige positive Ladung mit negativen Liganden abgesättigt werden (Abb. 6/IV). Dies ist zum Beispiel beim Hämin (Fe - Protoporphyrin IX - Cl) der Fall, wo  $Z = 3$  ist und die überschüssige Ladung durch das Chlorid-Anion kompensiert wird. Dabei ergibt sich eine quadratisch-pyramidale Koordination ( $C_{4v}$ ). Da die Eisen-Chlor-Bindung koaxial mit der Hauptrotationsachse ( $C_4$ ) verläuft, spricht man von einem "axialen" Liganden. Auch Chelate von Mg(II), Cd(II) und Zn(II) können mit einem zusätzlichen Liganden fünffach koordinierte Komplexe bilden.

Ist die Koordinationszahl eines Metall-Ions größer als vier, so müssen die restlichen Stellen in der Koordinationssphäre mit neutralen Donatormolekülen (z.B. Lösungsmittelmoleküle) aufgefüllt werden (Abb. 6/V).

Durch Zugabe von Säuren kann die Reaktionsfolge umgekehrt, und das Metall wieder aus dem Porphyrinring entfernt werden. Bei der Transmetallierung wird ein Metallion durch ein anderes ersetzt. Dient die Stabilität gegenüber Säuren oder in Gegenwart anderer Metallionen als Maß, so ergibt sich für die Metalloporphyrine folgende Reihe mit abnehmender Stabilität [18]:



Die Cd(II)-, Pb(II)- und Ba(II)-(P)-Komplexe zeigen im Vergleich zur gewöhnlichen Reihe der Metallkomplexe eine relativ niedrige Stabilität. Dies mag auf die Größe der Ionen zurückzuführen sein, die es ihnen nicht ermöglicht in der Porphyrinebene zu sitzen. Ein mittlerer Ionenradius von etwa 64 pm wird als am besten passend für die Komplexebene im Porphyrinzentrum angenommen [16], und der Ionenradius von  $\text{Ba}^{2+}$  zum Beispiel beträgt über das Doppelte.

Nach Buchler [16] zeigt die Abweichung von der Lage der "normalen"  $\alpha$ -Bande bei etwa 573 nm entweder eine wachsende Stabilisierung durch  $[d_{\pi} \rightarrow p_{\pi}]$ -Rückbindung an (hypsochrome Verschiebung) oder eine wachsende Destabilisierung aufgrund der räumlichen Verzerrung des planaren Porphyrinliganden (bathochrome Verschiebung).

Man unterscheidet weiterhin zwischen "kovalent" und "ionisch" gebundenen Metalloporphyrinen. Zu denen, die in ihrer Stabilität zwischen den "kovalenten" und "ionischen" liegen, müssen Cd(II)-, Hg(II)- und Pb(II)-(P)-Komplexe gezählt werden, wobei die ionischen Bindungsanteile überwiegen [17]. Die Art der Bindung hat einen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Komplexe. Qualitativ läßt sich sagen, daß mehr "kovalent" gebundene Metalloporphyrine langsamere Austauschraten bei Raumtemperatur besitzen als jene mit eher "ionischer" Bindung.

### 3.2.3. Analytische Anwendung von Porphyrinen

Aufgrund ihrer Fähigkeit mit nahezu allen Elementen des Periodensystems Komplexe zu bilden und vor allem wegen der hohen molaren Extinktionskoeffizienten werden Porphyrine als Indikatoren zur spektralphotometrischen oder fluorimetrischen Bestimmung genutzt. Zum ersten Mal wurde 1957 ein Porphyrinderivat zur spektrophotometrischen Bestimmung von Zink eingesetzt [19]. Eine Übersicht über bis 1980 veröffentlichte Methoden, die sich der Porphyrine als Indikator bedienten, wird in [20] gegeben. Einige ausgesuchte Beispiele, die ihren weiteren Einsatz in der analytischen Chemie aufzeigen, seien erwähnt:

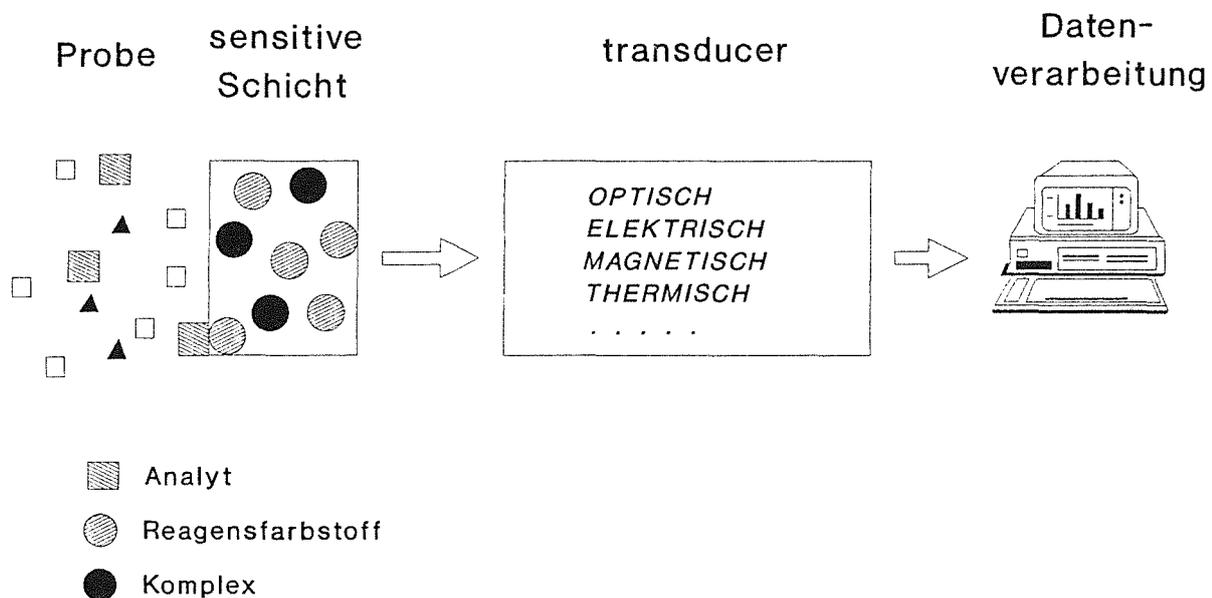
Neben Metallionen wie Mn(II) [21], Co(II) [22], Cu [23,24], Zn [25,26] und Pb(II) [27] können auch Anionen (Sulfid [28]) und sogar gasförmige Spezies (Stickstoffmonoxid [29]) mithilfe von Porphyrinderivaten nachgewiesen werden. Wie schon die kleine Auswahl zeigt, ist diese Farbstoffklasse vielseitig anwendbar.

Für den Einsatz als Reagensfarbstoff bei einem optischen, chemischen Sensor sind die Porphyrine, wie später noch ausgeführt wird, gerade in Hinblick auf eine Immobilisierung ideal.

### 3.3. Faseroptische, chemische Sensoren

#### 3.3.1. Definition

Ein chemischer Sensor wird allgemein definiert als eine Meßeinrichtung, die den chemischen Zustand einer Probe (z.B. Konzentration, Partialdruck) auf ein elektrisches Signal abbildet [30]. Die dafür notwendigen Bauteile und dabei ablaufenden Vorgänge sind in Abbildung 7 schematisch dargestellt.



**Abb. 7: Chemischer Sensor**

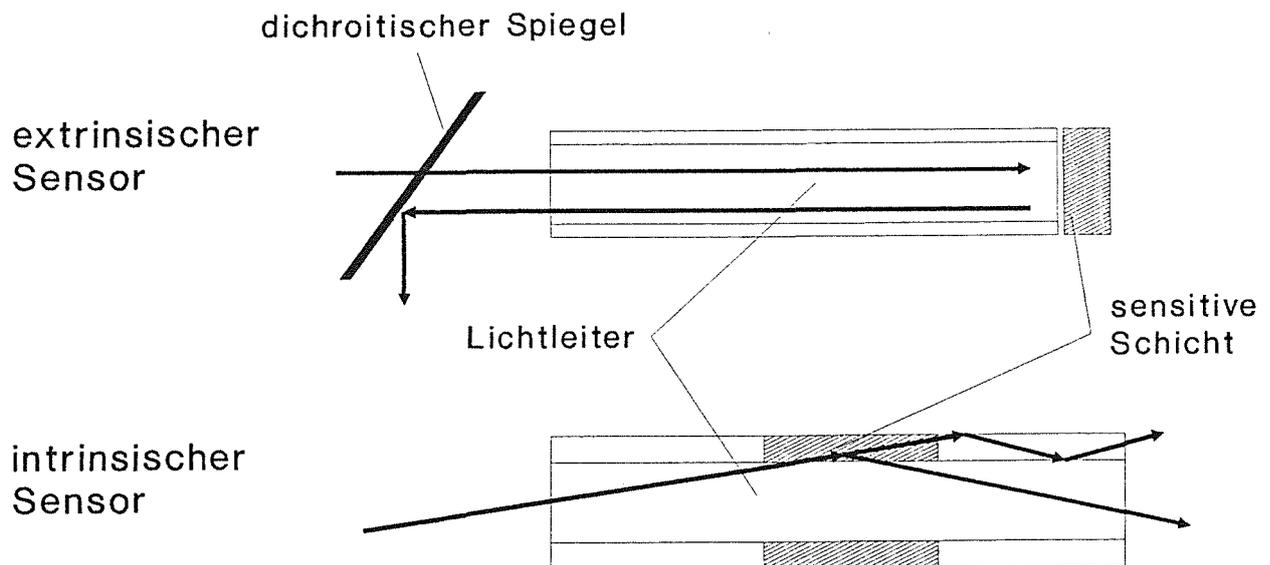
Die sensitive Schicht verändert durch Wechselwirkung mit der Probenlösung ihre physikalischen Eigenschaften. Durch ein sog. "transducer"-Element wird diese Eigenschaftsänderung in ein elektrisches Signal transformiert und auf eine Anzeige- und Auswerteeinheit weitergeleitet.

Durch Reaktion von Analytteilchen in der Probe mit Molekülen der sensitiven Schicht ändert sich deren physikalische Eigenschaft. Die Übersetzung dieser physikalischen Zustandsänderung in ein

auswertbares, elektrisches Signal erfolgt über eine sog. "transducer"-Einheit. Dies kann im einfachsten Fall eine Elektrode, aber auch ein aufwendiges Spektrometer sein. Die elektrischen Signale können dann auf einer Anzeigeneinheit (Schreiber, Digitalanzeige) dargestellt oder zur weiteren Bearbeitung bzw. Dokumentation auf eine Rechneinheit geleitet werden.

Bei einem faseroptischen, chemischen Sensor wird das Meßlicht über Lichtleiter zur sensitiven Schicht geleitet, deren optische Eigenschaft (Absorption, Fluoreszenz, Brechungsindex) sich durch reversible Reaktion mit dem Analyten ändert. Die Lichtleiteranordnung ist an eine optische Meßeinheit ("transducer") adaptiert, welche die optischen Signale in elektrische transformiert.

Die bisher veröffentlichten Systeme lassen sich einteilen hinsichtlich der Art der Immobilisierung (adsorptiv, elektrostatistisch, chemisch) oder der Anbringung der sensitiven Schicht am Lichtleiter (intrinsisch, extrinsisch; Abbildung 8).



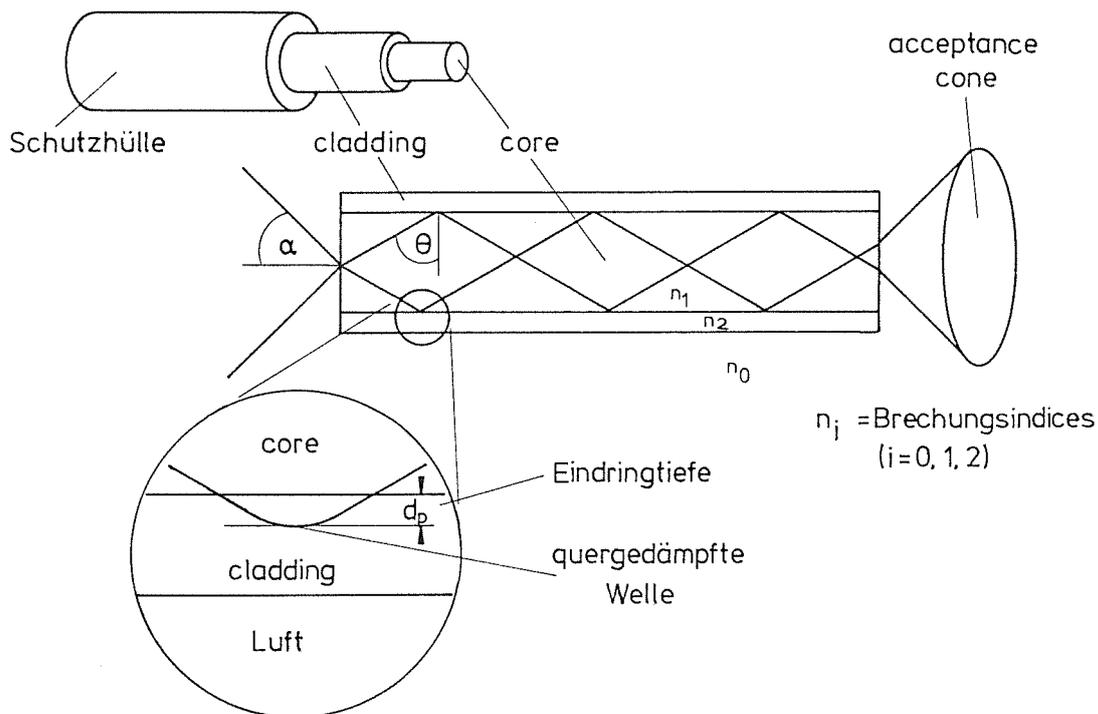
**Abb. 8: Intrinsischer und Extrinsischer Sensor**

Bei den faseroptischen Sensoren kann die sensitive Schicht in den beiden dargestellten Arten an einem Lichtleiter angebracht sein. Bei den extrinsischen Sensoren ist die sensitive Schicht am Ende eines Lichtleiters fixiert und bei den intrinsischen Sensoren ersetzt sie einen Teil der Lichtleiterummantelung (vgl. Abb. 9).

Da ein wichtiger Bestandteil dieser chemischer Sensoren die Lichtleiter sind, soll im folgenden kurz auf die physikalischen Grundlagen des Lichttransportes in solch einem Leiter eingegangen werden.

### 3.3.2. Faseroptik

Eine optische Faser ist, wie folgt, aufgebaut (Abbildung 9):



**Abb. 9: Optische Faser**

Eine optische Faser ist aus einem durchsichtigen "core" mit Brechungsindex  $n_1$  aufgebaut, welches von einem "cladding" mit Brechungsindex  $n_2$  ummantelt ist. Das Licht wird durch Totalreflexion entlang der Faser geleitet, wobei es bis zu einer Tiefe ' $d_p$ ' in das cladding eindringt, wie in der Vergrößerung zu sehen ist.

Sie besitzt ein transparentes, auch als "core" bezeichnetes Inneres mit einem Brechungsindex  $n_1$ . Dieses "core" ist von einem Mantel mit einem Brechungsindex  $n_2$  umgeben (sog. "cladding"). Als Materialien werden Quarz, Glas oder Kunststoffe verwendet. Die Lichtleitung kann nur erfolgen wenn  $n_1 > n_2 > n_0$  ( $n_0 = \text{Brechungs-}$

index der umgebenden Luft). Ist dies der Fall, so wird das Licht durch mehrfache Totalreflexion an der Übergangsschicht "core-cladding" entlang der Faser geführt. Es gilt folgende Reflexionsbedingung:

$$(10) \quad \sin \theta \geq n_2/n_1 \quad n_i = \text{Brechungsindices}$$

Diese Bedingung ist erfüllt, wenn das Licht bis zu einem bestimmten Winkel  $\alpha$  ("critical angle") in die Stirnfläche des Lichtleiters eintritt. Der durch diesen Winkel  $\alpha$  aufgespannte Kegel des eintretenden Lichtes wird auch als "acceptance cone" bezeichnet. Die Eigenschaft der sog. "evanescent wave" (quergedämpfte Welle) wird bei den bereits erwähnten, intrinsischen Sensoren ausgenutzt [31]. Wird das Licht am Interface totalreflektiert, so dringt eine elektromagnetische Welle senkrecht zum Strahl in das "cladding" ein. Unter der Eindringtiefe  $d_p$  - die in der Größenordnung der Lichtwellenlänge liegt - versteht man die Tiefe, bei der die Intensität des in das "cladding" eingedrungenen Lichts auf  $1/e$  abgefallen ist. Bei diesem Vorgang wird eine Wechselwirkung des Lichts mit Komponenten im "cladding" ermöglicht. Zum Beispiel kann die "evanescent wave" benutzt werden, um selektiv Fluoreszenz im "cladding" anzuregen [32].

### 3.3.3. Matrices und Immobilisierung

Für die Kombination von Matrix und Immobilisierung der Reagenzfarbstoffes stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung. Bei der Wahl sollten in Hinblick auf eine technische Realisierung der Sensoren folgende Parameter beachtet werden:

- Leichte Handhabung
- Ausreichend lange Standzeit des Sensors
- Kurze Ansprechzeit
- Einfache Immobilisierungstechnik
- Preiswerte Ausgangsprodukte

- Möglichst reproduzierbare Herstellung
- Reversible Reaktion

Für eine vorgesehene Anwendung sind die genannten Kriterien zu optimieren, um den gestellten Anforderungen in ausreichendem Maße zu entsprechen.

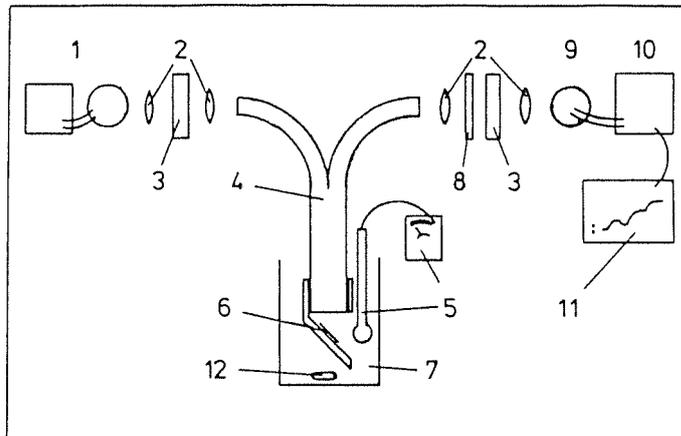
Als Matrices werden vor allem pulverförmige Polymere oder Polymermembranen eingesetzt, die funktionelle Gruppen besitzen. Das adsorptive Binden eines Indikators an solch ein Polymer ist sehr einfach durchführbar, hingegen ist die Langzeitstabilität dieser auf van-der-Waals-Kräften beruhenden Bindung in der Regel ungenügend. Eine stärkere Bindung aufgrund elektrostatischer Wechselwirkung, und damit eine bessere Langzeitstabilität erhält man mit Ionenaustauschermaterialien. Deren Einsatz setzt allerdings anionische oder kationische Ankergruppen am Molekül voraus. Die beste Langzeitstabilität sollte durch eine chemische Bindung des Farbstoffmoleküls erreichbar sein. Hierzu sind funktionelle Gruppen notwendig, die nicht identisch mit den für die Komplexbildung erforderlichen sein dürfen. Zu beachten ist auch, daß eine eventuelle Modifikation eines Reagensfarbstoffes sich nachteilig auf dessen Komplexierungseigenschaften auswirken kann.

#### 3.3.4. Apparativer Aufbau

In Abbildung 10 ist ein Beispiel für den apparativen Aufbau mit einem extrinsischen, faseroptischen Sensor gezeigt.

Bei den extrinsischen Sensoren wird die sensitive Schicht am Ende des Lichtleiters angebracht. Der Lichtleiter dient in diesem Fall lediglich als Übertragungsmedium vom Spektrometer zur "Küvette" (= sensitive Schicht), vergleichbar einem Draht, der über den Strom die Verbindung von und zu einem elektrischen Sensor herstellt. In der dargestellten Apparatur wird das Anregungslicht (Abb. 10/1-3) über einen Arm des Lichtleiterbündels (Abb. 10/4)

zum gemeinsamen Ende geleitet, wo die sensitive Schicht (Abb. 10/6) angebracht ist. Deren Fluoreszenzverhalten ändert sich mit dem pH-Wert der Lösung (Abb. 10/7). Das Fluoreszenzlicht wird über den anderen Arm des zweigeteilten Faserbündels zur Detektionseinheit (Abb. 10/8-11) geführt. Die für die Messung relevante optische Schichtdicke entspricht der Dicke der Sensorschicht.



- 1 = 50 Watt Halogenquarzlampe mit Netzgerät
- 2 = Linsen
- 3 = Interferenzfilter
- 4 = stochastisch verteiltes, zweiarmiges Quarzfaserbündel (3.2 mm Durchmesser)
- 5 = kombinierte Glaselektrode mit pH-Meter
- 6 = Sensormembran
- 7 = Probenlösung
- 8 = Kantenfilter GG 515
- 9 = Photomultiplerröhre
- 10 = Spannungsversorgung und Auswerteeinheit für '9'
- 11 = Schreiber
- 12 = Rührer

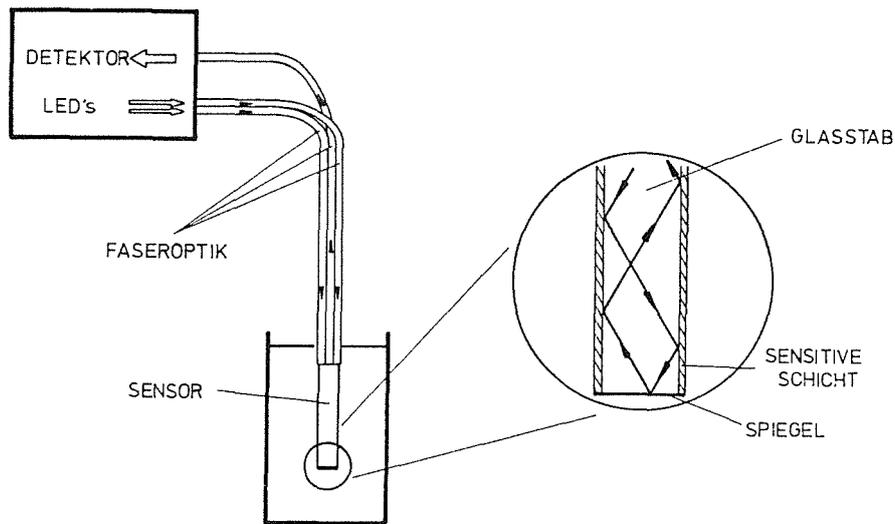
**Abb. 10: Extrinsischer pH-Sensor [33]**

Erläuterung siehe Text.

Bei den intrinsischen, faseroptischen Sensoren ist die sensitive Schicht ein inhärenter Teil des Lichtleiters, und beinhaltet damit eine Änderung der Eigenschaften des Lichtleiters selbst. Über eine bestimmte Länge ersetzt sie das "cladding".

Im vorgestellten Beispiel (Abbildung 11) besteht die sensitive Schicht aus einer gaspermeablen Silikonmembran, in die ein pH-

Indikator eingebracht wurde. Der Indikator ändert sein Absorptionsverhalten in Abhängigkeit der Ammoniakkonzentration.



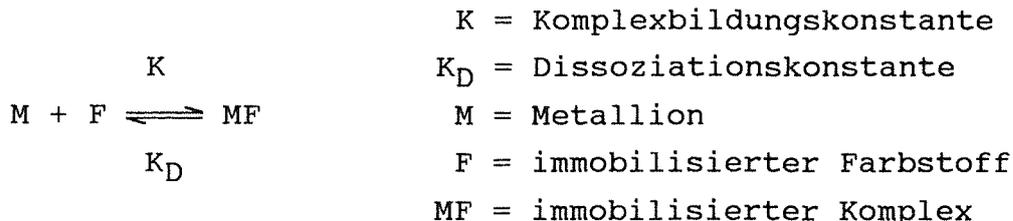
**Abb. 11: Intrinsischer  $\text{NH}_3$ -Sensor [34]**

Das gepulste Licht zweier Leuchtdioden wird über Lichtleiter zum Sensor geleitet, der aus einem mit einer sensitiven Schicht umgebenem Glasstab besteht. Das am verspiegelten Ende des Glasstabes reflektierte Licht wird zum Detektor (Photodiode) geleitet, und die Intensität bestimmt.

Beim Transport des Lichts durch Vielfachreflexion kann die "evanescent wave" mehrmals in die sensitive Schicht eintreten und mit dem Indikator wechselwirken. Dadurch läßt sich die optische Schichtdicke erhöhen. Dies ist speziell dann wichtig, wenn die Konzentration des Reagens' in der sensitiven Schicht gering ist oder sein muß. Denn erhöht sich die optische Schichtdicke, so erhält man gemäß dem Lambert-Beer'schen Gesetz dieselbe Absorption bei geringerer Konzentration. Durch die Verringerung der Reagenskonzentration wiederum läßt sich - wie im folgenden Abschnitt ausgeführt - die Nachweisempfindlichkeit im Rahmen der apparativen Möglichkeiten verbessern.

### 3.3.5. Mathematische Beschreibung

Liegt eine reversible Reaktion gemäß folgender Reaktionsgleichung vor,



so lassen sich die Verhältnisse bei einem faseroptischen, chemischen Sensor nach Seitz et al. [35], wie folgt, mathematisch beschreiben. Die Komplexbildungskonstante 'K' berechnet sich nach Gleichung (11) (vgl. Gleichung (9) in Abschnitt 3.1.4.):

$$(11) \quad K = \frac{x_{MF}}{x_F \cdot [M]}$$

$x_i$  = Molzahl der immobilisierten Spezies  
 (i = M, MF)  
 $[M]$  = Konzentration an freiem Metallion

Die Gesamtheit der immobilisierten Farbstoffteilchen ' $C_F$ ' setzt sich aus der Summe der Molzahlen der immobilisierten Spezies zusammen.

$$(12) \quad C_F = x_{MF} + x_F$$

$C_F$  = Gesamtmolzahl des immobilisierten Liganden

Durch Einsetzen von Gleichung (12) in (11) und durch Umformen wird ein Ausdruck für die Molzahl des gebildeten, immobilisierten Komplexes erhalten.

$$(13) \quad x_{MF} = C_F \cdot \frac{[M] \cdot K}{1 + [M] \cdot K}$$

Die Konzentration an freiem Metallion setzt sich zusammen aus der Ausgangskonzentration an Metallion  $M_0$  vermindert um den Anteil komplexierter Ionen.

$$(14) \quad [M] = [M]_0 - (x_{MF}/V) \quad [M]_0 = \text{eingesetzte Metallionen-} \\ \text{konzentration}$$

V = Probevolumen

Unter der Annahme, daß das Probevolumen unendlich groß ist im Vergleich zum Sensorvolumen, werden vernachlässigbare Mengen an Metallionen aus der Probelösung extrahiert. In diesem Fall kann man die Konzentration an freiem Metallion gleich der Ausgangskonzentration setzen und es gilt:

$$(15) \quad x_{MF} = C_F \cdot \frac{[M]_0}{[M]_0 + K_D} \quad \text{für } V \rightarrow \infty$$

Aus Gleichung (15) ist ersichtlich, daß die Konzentration - und damit die Extinktion (vgl. Lambert-Beer'sches-Gesetz) - des Komplexes mit wachsender Metallionenkonzentration einem Grenzwert zustrebt ( $[M]_0 \gg K_D$ ). Dies korrespondiert mit der Sättigung des Reagensfarbstoffes mit Analytionen.

Für kleine Konzentrationen ( $[M]_0 \ll K_D$ ) besteht ein linearer Zusammenhang zwischen Extinktion der Komplexbande und der eingesetzten Konzentration an Metallion  $[M]_0$ . Für die Nachweisgrenze  $c_{\text{Grenz}}$  gilt:

$$(16) \quad c_{\text{Grenz}} = K_D \cdot x_{MF}/C_F \quad c_{\text{Grenz}} = \text{Nachweisgrenze}$$

Bei einer gegebenen Dissoziationskonstante des Komplexes hängt die Nachweisgrenze vom Verhältnis  $x_{MF}/C_F$  ab. Aufgrund der Spektrometereigenschaften ist die Bestimmung des Verhältnisses der Extinktionen von gebildetem, immobilisiertem Komplex zu immobilisiertem Farbstoff terminiert, d.h. bei einem gegebenen Auflösungsvermögen des Spektrometers ist die Nachweisgrenze umgekehrt proportional der Menge an eingesetztem Farbstoff.

### 3.3.6. In der Literatur beschriebene Optroden

Die erste derartige Meßeinrichtung wurde 1975 von Lübbers und Opitz in der Literatur beschrieben und als "Optode" bezeichnet [36]. In der angelsächsischen Literatur wird die Bezeichnung "Optrode" benutzt. Dies sind Kunstbegriffe entstanden durch Zusammenziehen der Wörter "optische Elektrode". Sie sollen auf die Verwandtschaft mit ionenselektiven Elektroden hinsichtlich Aufbau und Einsatzgebiet hindeuten.

Die Richtung der in den letzten Jahren einsetzenden Forschungsaktivitäten auf diesem Gebiet soll anhand einiger Beispiele aufgezeigt werden:

Ausführliche Übersichten über bisher entwickelte Systeme finden sich in diversen Publikationen [37-43]. Grundlegende Fragestellungen bei der Entwicklung faseroptischer, chemischer Sensoren wurden wegen der Einfachheit und Zuverlässigkeit an Systemen untersucht, die den pH-Wert der Probelösung mit Hilfe eines immobilisierten pH-Indikators bestimmten [44-48]. Danach wurden für verschiedene Analyten Optroden vorgestellt, darunter auch für umweltrelevante Spezies wie  $\text{SO}_2$  [49],  $\text{NH}_3$  [50-52],  $\text{Cd}^{2+}/\text{Al}^{3+}$  [53].

In neuerer Zeit zeichnet sich ein starker Trend in der Entwicklung sog. Biosensoren ab [54,55]. Ein Teil dieser Systeme nutzt das Phänomen aus, daß bei Enzymreaktionen kleinere anorganische Moleküle entstehen oder verbraucht werden. Tabelle 2 zeigt eine Auswahl der untersuchten, biochemisch relevanten Substrate, die verwendeten Enzyme und die eigentlich gemessene Spezies. Bei der Entwicklung optischer, enzymatischer Biosensoren kann man auf die reichhaltige Erfahrung auf dem Gebiet der ionensensitiven Elektroden zurückgreifen [56].

Folgende, speziell für die klinische Chemie interessanten Komponenten wurden mit Hilfe von Optroden analysiert:

$\text{K}^+$  [61],  $\text{Na}^+$  [62],  $\text{pCO}_2$  [63],  $\text{Ca}^{2+}$  [64], Glucose [65] usw.

Neben den u.a. von Simon und Mitarbeitern entwickelten, ionensensitiven Elektroden, die auf modifizierten PVC-Membranen basieren, kommt den Optroden gerade bei der Analyse der Blut-elektrolyte eine steigende Bedeutung zu.

**Tabelle 2: Optroden auf der Basis von Enzymreaktionen**

Metabolit	Enzym	gemessene Spezies	Meß-effekt	Lit.
Harnstoff	Urease	Ammonium	pH	57
Penicillin	Penicillinase	Protonen (pH-Wert)	pH	58
Lactat	Lactoxygenase	Sauerstoff	Fluoreszenzlösung	59
Ethanol	Alkoholdehydrogenase	NAD <sup>+</sup> /NADH	Fluoreszenz	60

### 3.3.7. Wirkungsweise der Simon'schen Optroden

Die Arbeitsgruppe von W. Simon (ETH Zürich) hat das Konzept der ionensensitiven Elektroden (ISE) mit organischen Komplexbildnern (sog. "Ionophore" oder Carrier) in Richtung Optroden weiterentwickelt [66,67]. Die ISE's basieren auf Membranen, die zwei Phasen trennen. Der Stoffaustausch zwischen den beiden Phasen wird derart durch einen Ionophor modifiziert, daß sich eine Potentialdifferenz über die Membran entwickeln kann. Als Membranmaterial wird u.a. eine Mischung von Poly(vinylchlorid) (PVC) mit Weichmacher und einem neutralen Ionophor verwendet. Die Ionophore sind in der Regel lipophile, organische Komplexbildner, die selektiv Ionen aus der wässrigen Phase in der Membran binden. Durch diese Ladungsseparation lädt sich die Membran gegenüber der Lösung auf. Die Nernst'sche Gleichung (14) beschreibt den Zusammenhang zwischen der Konzentration und dem Potential über der Membran. Es werden soviele Ionen aus der Lösung durch den neutralen Carrier

in die Membran durch Komplexierung extrahiert, bis das Membranpotential die Nernst'sche Bedingung erfüllt (= elektrochemisches Gleichgewicht).

$$(14) \quad E = E_0 + \frac{R \cdot T}{z \cdot F} \cdot \ln \frac{a_{\text{Probe}}}{a_{\text{Ref}}}$$

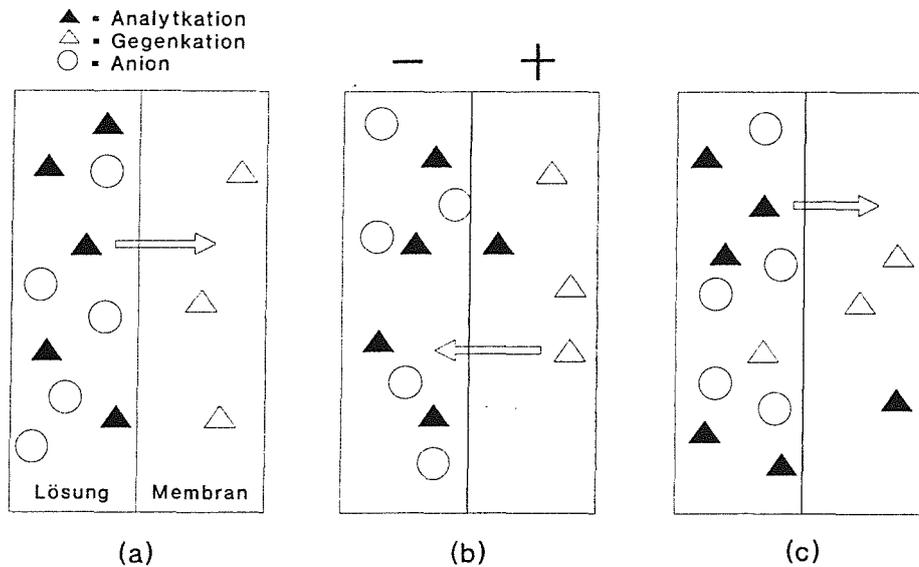
E = Elektrodenpotential  
 E<sub>0</sub> = Standardpotential  
 R = Gaskonstante  
 T = Temperatur  
 F = Faraday-Konstante  
 z = Ladungszahl  
 a<sub>Probe</sub> = Aktivität der Probenlösung  
 a<sub>Ref</sub> = Aktivität der Referenzlösung

Bei den üblicherweise verwendeten PVC-Membranen genügen ca.  $2 \cdot 10^{-16}$  mol eines einwertigen Analytens in der Membran, um ein Potential von 59 mV einzustellen (Die Abschätzung erfolgte gemäß der im Anhang A2 angegebenen Rechnung). Diese geringe Menge ist aber mit den bei Optroden üblichen, einfachen optischen Methoden nicht detektierbar. Um also mit Hilfe von ionensensitiven PVC-Membranen die Konzentration des Analyten in der Probe mit einem optischen Signal anstelle eines elektrischen erfassen zu können, ist es notwendig, das aufgrund der Ladungsseparation entstehende Potential abzubauen, so daß ein Konzentrationsausgleich ( $c_{\text{Lösung}} = c_{\text{Membran}}$ ) erfolgen kann. Dies ist im Prinzip auf zwei Arten erreichbar:

Will man positive Ladungen in der Membran kompensieren, so läßt man beim sog. "counter-Transport" (Abbildung 12) durch einen zusätzlichen Ionophor positive Teilchen aus der Membran transportieren.

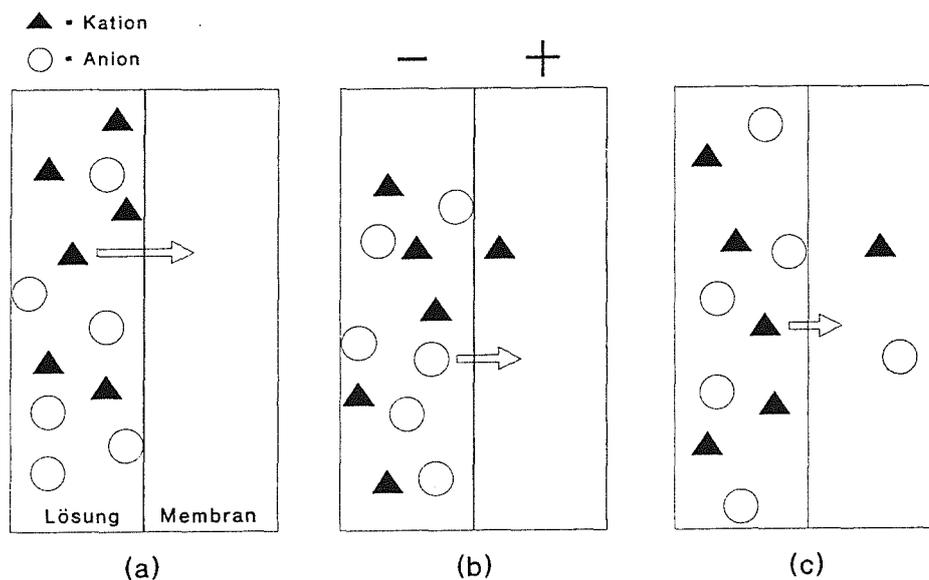
Im anderen Falle, beim sog. "co-Transport" (Abbildung 13), werden nach der Komplexierung des Analytkations durch den Ionophor Anio-

nen in die Membran transferiert, was ebenfalls zu einem Ladungsausgleich führt.



**Abb. 12: counter-Transport**

Bei der Komplexbildung von Analytkationen durch den neutralen Carrier in der Membran entsteht ein Potential aufgrund der Ladungstrennung (a). Beim sog. "counter"-Transport soll der co-Ionophor durch den Transport von Kationen aus der Membran in die Probelösung, das entstandene Potential abbauen (b). Dadurch wird eine erneute Komplexbildung von Analytionen ermöglicht (c).



**Abb. 13: co-Transport**

Beim co-Transport soll der co-Ionophor das durch die Komplexbildung von Analytkationen entstehende Potential (a) (vgl. Abb. 12) durch den Transport von Anionen in die Membran abbauen (b) und dadurch eine erneute Komplexbildung von Analytionen ermöglichen (c).

In beiden Fällen wird der Vorgang durch das partiell entstehende elektrische Feld begünstigt. Außerdem wird durch diese Vorgehensweise erreicht, daß eine für die optische Detektion ausreichende Zahl von Analytionen in die Membran gelangt.

Der Nachweis erfolgt über eine spektrale Änderung an einem der beiden Ionophore. Morf und Mitarbeiter schlagen drei Kombinationsmöglichkeiten von sog. Chromoionophor und co-Ionophor vor [68]:

- 1) Die Kombination eines kationenselektiven mit einem anionenselektiven, neutralen Carrier in der Membran (co-Extraktion; co-Transport), von denen mindestens einer ein Chromoionophor ist.
- 2) Die Kombination eines kationenselektiven, neutralen Ionophors mit einem negativ geladenen Liganden oder Kationenaustaucher in einer Membran (und umgekehrt für Anionenaustauschersysteme), von denen mindestens einer ein Chromoionophor ist (Ionenaustausch; counter-Transport).
- 3) Die Kombination zweier unterschiedlicher kationenselektiver, neutraler Ionophore in einer Membran mit negativ geladenen Bindungsstellen (und umgekehrt für Anionenaustauschersysteme), wobei mindestens einer der beiden Carrier ein Chromoionophor ist (Ionenaustausch; counter-Transport).

## 4. EXPERIMENTELLER TEIL

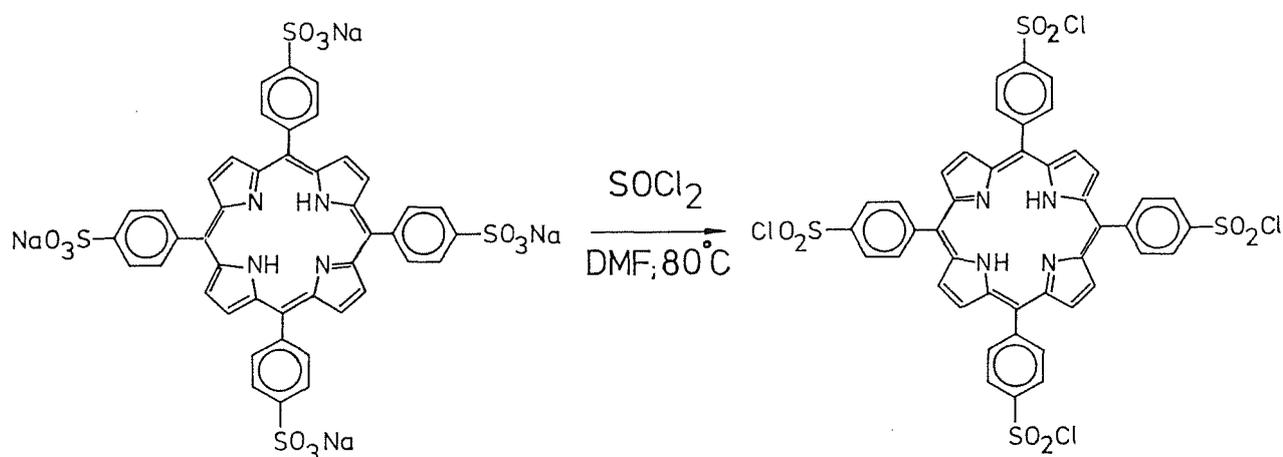
### 4.1. Chemikalien und Reagenzien

Die verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen Merck (Darmstadt), Fluka (Neu-Ulm) und Aldrich (Steinheim) in p.A.-Qualität bezogen. Auf eine weitere Reinigung wurde verzichtet.

#### 4.1.1. Farbstoffe

Die Porphyrinderivate 5,10,15,20-*meso*-Tetra(*p*-carboxyphenyl)porphyrin (TPPC); 5,10,15,20-*meso*-Tetraphenylporphyrin (TPP) und 5,10,15,20-*meso*-Tetra(*p*-sulfophenyl)porphyrin (Na-Salz) (TPPS) sind erhältlich bei der Fa. Ventron, Karlsruhe. Das Derivat 5,10,15,20-*meso*-Tetra(*p*-aminophenyl)porphyrin (TPPN) wurde von Dr. Schmitt, Institut für PAH-Forschung, Greifenberg gemäß einer Synthesevorschrift von Gitzel [69] hergestellt.

Um TPPS chemisch zu immobilisieren, wurde der Farbstoff, wie folgt, in das Sulfonsäurechlorid umgewandelt:



61,9 mg TPPS (0,05 mmol) gelöst in 20 ml Dimethylformamid (DMF) wurden mit einem Überschuß Thionylchlorid (0,5 ml  $\text{SOCl}_2$ ; 7 mmol) unter Rühren bei  $80^\circ \text{C}$  eine Stunde lang umgesetzt. Nach Abkühlen der Lösung wurde  $\text{SOCl}_2$  im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Das Produkt konnte ohne weitere Reinigung in der vorliegenden Form eingesetzt werden.

Für die PVC-Membranen wurde der Cd-TPP-Komplex in Anlehnung an eine Vorschrift von Buchler [16] hergestellt.

Dazu wurden 61,5 mg TPP (0,10 mmol) mit 35,8 mg  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  (0,11 mmol) und 0,1 ml Triethylamin in 50 ml DMF bei  $100^\circ \text{C}$  eine Stunde am Rückfluß gekocht. Die Reaktion des Metallsalzes mit dem Farbstoff konnte mit Hilfe von UV/VIS-Absorptionsmessungen verfolgt werden. Nach der angegebenen Zeit war kein Farbstoffspektrum neben dem Spektrum des Metalloporphyrins feststellbar, d.h. die Umsetzung war vollständig. Nach Abziehen des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum wurde der Rückstand in Tetrahydrofuran (THF) gelöst und in dieser Form zur Herstellung der PVC-Membranen eingesetzt.

Um das hydrophile TPPS in der hydrophoben PVC-Membran einsetzen zu können, wurde der Farbstoff durch Ionenpaarbildung auf folgende Weise modifiziert:

25 ml TPPS-Lösung ( $10^{-3}$  mol/l; Wasser) wurden mit 25 ml Tridodecylmethylammonium-Chlorid-Lösung (TDMA-Cl;  $4 \cdot 10^{-3}$  mol/l; Chloroform) ausgeschüttelt. Die Extraktion erfolgte mit einer in bezug auf die Sulfonsäurereste äquimolaren Menge an TDMA-Cl. Die mit Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Puffer (pH = 9) gewaschene und über wasserfreiem  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknete, organische Phase konnte in dieser Form eingesetzt werden.

Der Fluoreszenzfarbstoff Morin (3,5,7,2',4'-Pentahydroxyflavon) wurde von der Fa. Merck bezogen.

## 4.2. Probelösungen

Zur Herstellung der benutzten Lösungen und zur Erstellung von Verdünnungen wurde entionisiertes Wasser (LAB-IoN, Kreuzwertheim; Modell L25) eingesetzt. Die Verdünnungen wurden jeden Tag frisch bereitet.

### 4.2.1. Wässrige Stammlösungen

Eine Cadmium-Stammlösung ( $10^{-2}$  mol/l) wurde durch Einwiegen und durch Auflösen einer entsprechenden Menge von festem  $\text{CdSO}_4$  in Wasser täglich frisch bereitet, als Quecksilber-Stammlösung diente eine Standardlösung für die Atomabsorptionsspektroskopie (1000 ppm; Fa. Baker, Gross-Gerau) und die Blei-Stammlösung war eine Standardlösung für ionensensitive Elektroden ( $10^{-1}$  mol/l; Fa. Metrohm, Herisau (Schweiz)).

Die wässrige Farbstoff-Stammlösung (TPPS,  $10^{-3}$  mol/l) wurde lichtgeschützt aufbewahrt und für alle Messungen verwendet. Die Meßlösungen des Farbstoffs wurden durch Verdünnen der TPPS-Lösung mit entsprechenden Puffergemischen täglich frisch hergestellt.

### 4.2.2. Pufferlösungen

Zur Immobilisierung der Farbstoffe auf VA-Epoxy diente eine im folgenden als 'K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Puffer' bezeichnete Lösung von 0,1 mol/l K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 1 mol/l KCl in Wasser. Der erforderliche pH-Wert von pH = 9 wurde mit 5,7 mol/l HCl-Lösung eingestellt.

Als Pufferlösung für die Cadmium-Bestimmung wurde eine wässrige 0,1 mol/l Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris)-Lösung verwendet, die mit KOH- bzw. HCl-Lösung auf die entsprechenden pH-Werte eingestellt wurde.

Um den pK-Wert von TPPS gelöst in H<sub>2</sub>O und immobilisiert auf VA-Epoxy zu bestimmen, wurden die Probelösungen mit einem Gemisch aus 0,1 M Citronensäure und 0,2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ("Mc-Illvaine"-Puffer [70]) auf den entsprechenden pH-Wert gepuffert.

#### 4.2.3. Organische Lösungen

Um die Verhältnisse in der Poly(vinylchlorid) (PVC)-Membran zu simulieren, wurden 1,2-Dichlorethan und n-Butylacetat im Verhältnis 1:2 gemischt. Die Zusätze wie Kalium-Tetrakis(p-Chlorphenyl)-Borat (KTPClPB) als lipophiles Anion, die untersuchten Ionophore und die Reagensfarbstoffe wurden jeweils so zu diesem Lösungsmittelgemisch zugesetzt, daß die Konzentration 2 bzw. 1 Gew% betrug.

Für die Herstellung von PVC-Membranen wurden die Ionophore, PVC und die Hilfszusätze in THF gelöst.

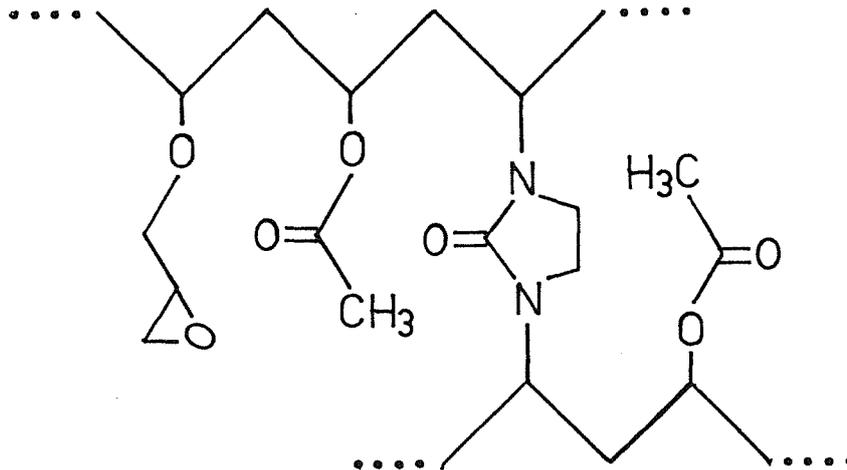
### 4.3. Immobilisierung und Sensorherstellung

#### 4.3.1. VA-Epoxy-Schichten

##### 4.3.1.1. Beschreibung der Matrix

Das pulverförmige VA-Epoxy (Fa. Riedel-de-Haen, Seelze) ist ein mit Divinylethylenharnstoff quervernetztes Poly(vinylacetat) mit Oxiranresten als funktionelle Gruppen (Abbildung 14).

Die Belegung mit Oxirangruppen beträgt 0,3 mmol/g und die Korngröße 50-200 µm. Für die Versuche wurde das Produkt ohne weitere Vorbehandlung eingesetzt.



**Abb. 14: Struktur von VA-Epoxy**

VA-Epoxy ist ein mit Divinylharnstoff quervernetztes Poly(vinylacetat), in welches nach partieller Hydrolyse Oxirangruppen als reaktive Stellen eingeführt wurden.

#### 4.3.1.2. Immobilisierung der Farbstoffe

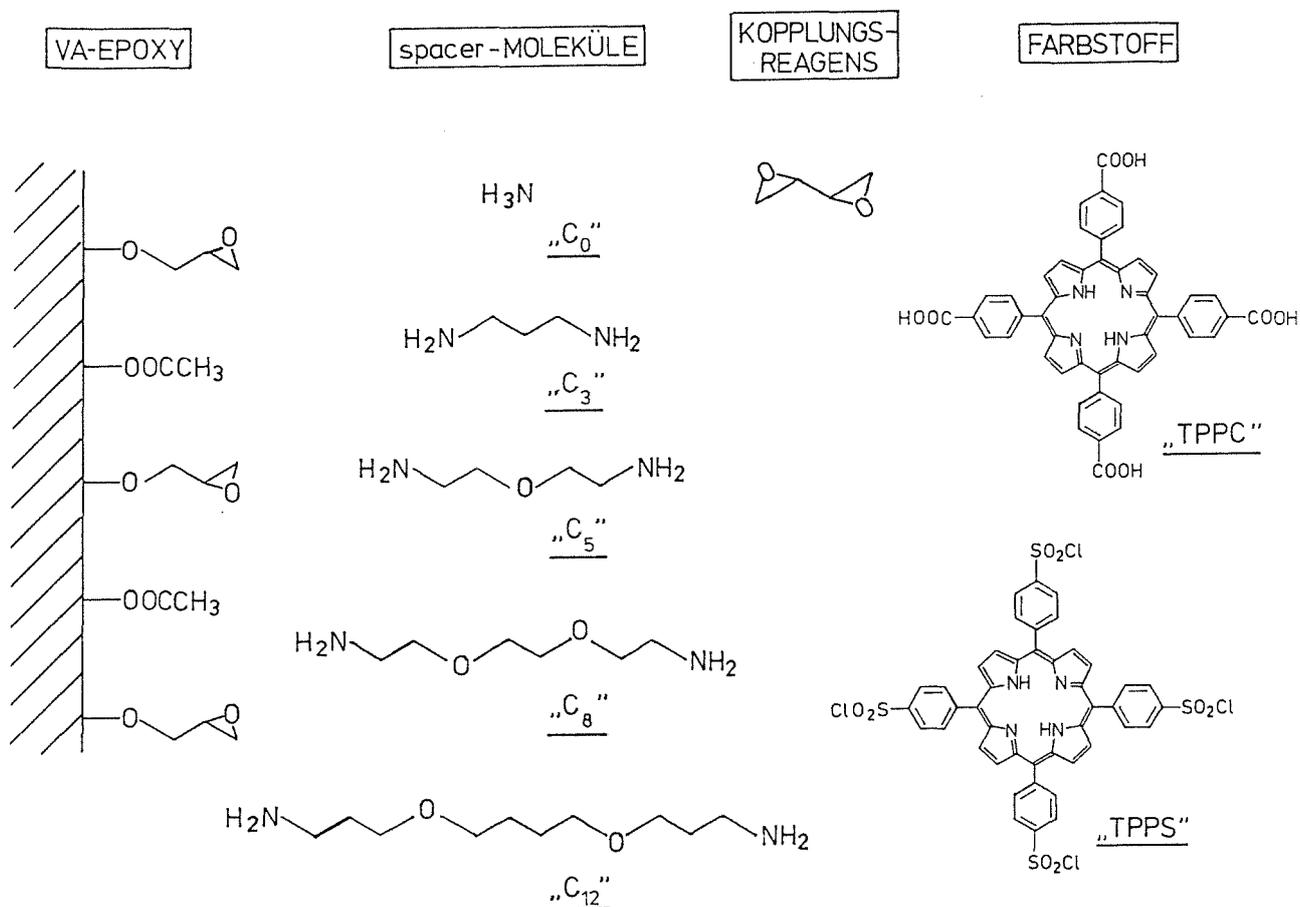
Die Immobilisierung der Farbstoffe mit nucleophilen Gruppen (TPPC und TPPN) erfolgte durch Rühren von je 100 mg VA-Epoxy-Pulver in 1 ml wässriger Farbstofflösungen ( $10^{-3}$  mol/l) und 2 ml K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Puffer über Nacht.

Vor der Immobilisierung von TPPS-Cl mußte das VA-Epoxy, wie folgt, modifiziert werden:

100 mg VA-Epoxy-Pulver wurde in 0,1 ml 25 %-ige NH<sub>3</sub>-Lösung in 10 ml K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Puffer über Nacht gerührt. Das Produkt wurde abgenutscht und der Rückstand gut mit halbverdünnter Pufferlösung, entionisiertem Wasser und Aceton abwechselnd gewaschen. Nach dem letzten Acetonwaschgang wurde solange Luft durchgesaugt, bis das Pulver trocken war. Zur Immobilisierung wurde das modifizierte VA-Epoxy-Pulver in 5 ml DMF und 5 ml einer Lösung von TPPS-Cl in DMF über Nacht gerührt.

Um den Einfluß des Abstandes des Farbstoffmoleküls von der Matrixoberfläche zu untersuchen, wurde VA-Epoxy mit verschiedenen

langen sog. "spacer"-Molekülen (endständige Diamin-Verbindungen) vor der Immobilisierung des Farbstoffs umgesetzt (die Bezeichnung der Sensoren mit spacer-Molekülen erfolgte nach der in Klammern angegebenen Nomenklatur).

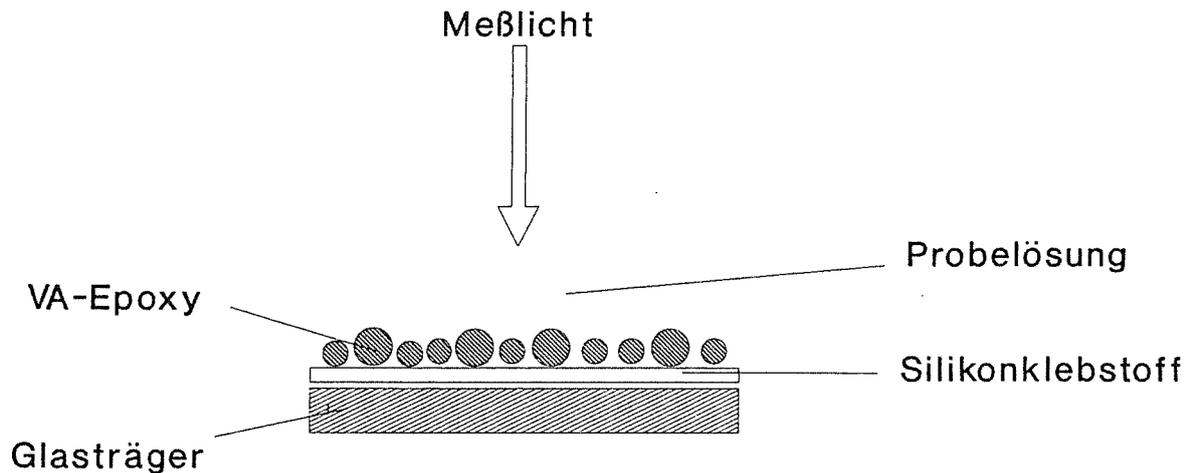


1,2 ml 25%-ige Ammoniaklösung (16 mmol, "C<sub>0</sub>"); 0,2 ml 1,3-Diaminopropan (2,4 mmol, "C<sub>3</sub>"); 200 mg Bis(2-aminoethyl)ether (1,2 mmol, "C<sub>5</sub>"); 0,45 ml 1,8-Diamino(3,6-Dioxa)octan (3 mmol, "C<sub>8</sub>") bzw. 0,65 ml 1,12-Diamino(4,9-Dioxa)dodecan (3 mmol, "C<sub>12</sub>") wurden mit je 1 g VA-Epoxy-Pulver in 10 ml K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Puffer über Nacht

gemäß einer Vorschrift der Fa. Röhm [71] gerührt. Nach der Reaktion wurde abgenutscht und das modifizierte VA-Epoxy mit halbverdünntem Puffer, H<sub>2</sub>O und Aceton, wie oben beschrieben, gewaschen. Im Falle des TPPC mußte vor der Immobilisierung des Farbstoffs eine weitere Umsetzung mit 1,2,3,4-Diepoxybutan als Kopplungsreagens erfolgen. Dazu wurden 0,5 mg trockenes, modifiziertes VA-Epoxy-Pulver in 5 ml K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Puffer und 0,2 ml Diepoxybutan (2,6 mmol) über Nacht gerührt. Nach dem Waschen mit halbverdünntem Puffer und Aceton konnten die Farbstoffe aus wässriger Lösung (TPPC) bzw. DMF-Lösung (TPPS-Cl), wie beschrieben, immobilisiert werden. In allen Fällen wurde das mit Farbstoffen umgesetzte VA-Epoxy-Pulver gut mit halbverdünntem Puffer und DMF gewaschen, bevor es 24 Stunden mit DMF im Soxhlet-Extraktor gereinigt wurde. Nach dem darauffolgenden Trocknen im Exsikkator über wasserfreiem CaCl<sub>2</sub> konnten die mit Farbstoff modifizierten Pulver zur Sensorherstellung eingesetzt werden.

#### 4.3.1.3. Sensorherstellung

Auf einen Objektträger wurde eine dünne Klebeschicht eines transparenten Silikonklebstoffs (E41, Wacker, Burghausen) aufgetragen. Nach 15-minütigem Antrocknen an der Luft wurde die Glasplatte auf ein Schnappdeckelglas, in welches das auf die im vorherigen Abschnitt beschriebene Weise umgesetzte, trockene Pulver gefüllt worden war, mit der Klebeseite nach unten aufgesetzt, und das Pulver durch Schütteln auf die Klebeschicht aufgebracht. Der Klebstoff der fertigen Schicht (Abbildung 15) war nach 2 Stunden vollständig ausgehärtet. Die auf diese Weise hergestellten, sensitiven Schichten - im folgenden als "VA-Sensor" bezeichnet - waren danach meßbereit.



**Abb. 15: VA-Sensor**

Ein VA-Sensor besteht aus durch Immobilisierung des Reagensfarbstoffs modifiziertem VA-Epoxy-Pulver, welches mit Silikonklebstoff auf einem Glasträger fixiert wurde. Als Meßsignal dient das an der Pulverschicht reflektierte Licht.

#### 4.3.2. Poly(vinylchlorid)-Membranen

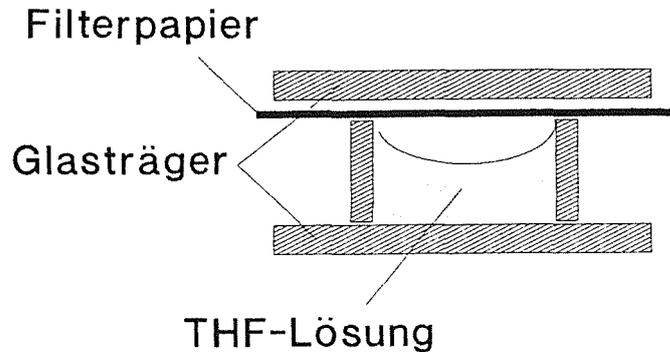
##### 4.3.2.1. Zusammensetzung der Membran

Das verwendete Poly(vinylchlorid) (PVC, hochmolekular; Fa. Fluka) wird speziell für die Herstellung ionensensitiver Elektroden angeboten. Als Stammlösung dienten 4 g PVC gelöst in 50 ml THF.

Zur Membranherstellung wurde folgende Mischung hergestellt: 80 mg Weichmacher (Bis[2-ethylhexyl]sebacat, DOS; Fluka) wurden mit 1,2 mg Kalium-Tetrakis(p-Chlorphenyl)Borat (KTpClPB; Fluka) in eine Petrischale eingewogen. Die 1,2 mg entsprechende Menge Farbstofflösung wurde hinzugefügt, und das Lösungsmittel (THF bei Cd-TPP; Chloroform bei TPPS/TDMA-Cl) verdunsten lassen. Die fertige Mischung entstand dann durch Zugabe von 0,5 ml PVC-Lösung (40 mg PVC) und 1,5 ml THF.

#### 4.3.2.2. Sensorherstellung

Aliquote der Membranmischung wurden in einen auf einem Objektträger ruhenden Glasring mit 2,4 cm Durchmesser pipettiert (Methode 1, Abbildung 16).

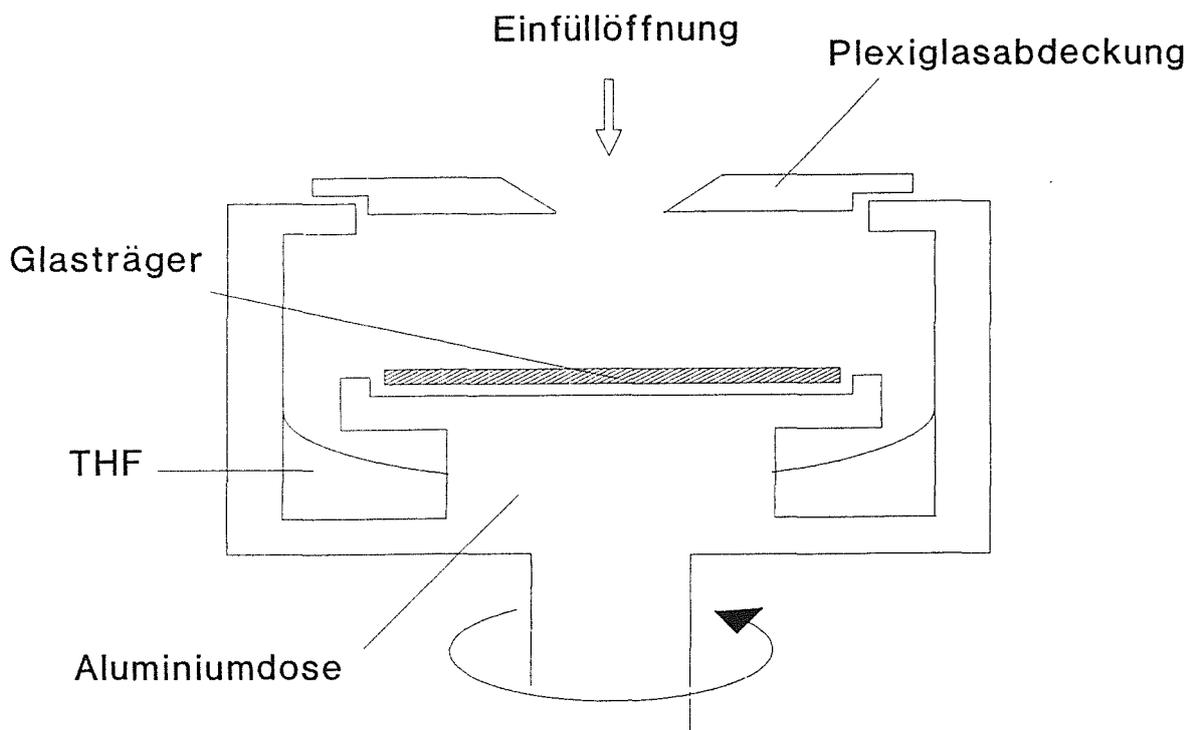


**Abb. 16: PVC-Membran-Herstellung (Methode 1)**

Bei Methode 1 wurde ein Glasring auf einen Glasträger aufgesetzt. Die Herstellung der Membranen erfolgte, indem ein Aliquot der Membranmischung (PVC, Weichmacher und Ionophore gelöst in THF) in den Glasring gefüllt wurde. Nach Verdunsten des Lösungsmittels waren die PVC-Membranen einsatzbereit.

Während des Aushärtens wurde der Glasring mit einem Filterpapier und einer Glasscheibe abgedeckt. Das Lösungsmittel (THF) konnte dadurch in einer THF-Atmosphäre unter Ausschluß von Luftfeuchtigkeit verdunsten. Wird nämlich beim Trocknungsvorgang Wasserdampf eingeschlossen, erhält man trübe Membranen. Die Trübung führt bei der Absorptionsmessung in Transmission zu einem erhöhten Untergrund durch Streuung, weshalb eine exakte Auswertung der Spektren nicht mehr möglich ist.

Bei Methode 2 wurde auf einen in einer THF-Atmosphäre rotierenden Objektträger (600 rpm) die PVC-Mischung aufgetragen. Dies erfolgte mit Hilfe der in Abbildung 17 dargestellten Apparatur.



**Abb. 17: PVC-Membran-Herstellung (Methode 2)**

Bei Methode 2 wurde die PVC-Membran hergestellt, indem ein Aliquot der Membranzusammensetzung auf einen rotierenden Glasträger (600 rpm) aufpipettiert wurde.

Zunächst wurde bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 300 rpm 0,5 ml THF auf den Glasträger aufpipettiert. Dadurch wurde die THF-Atmosphäre im Innern der Apparatur erzeugt und gleichzeitig die Oberfläche des Glasträgers gereinigt. Nach ca. einer Minute wurde die Umdrehungsgeschwindigkeit auf 600 rpm erhöht und 0,3 ml der Membranzusammensetzung aufpipettiert. Nach 30 Sekunden wurde der Motor abgestellt, der Glasträger mit einer Pinzette aus der Rotationskammer herausgenommen und innerhalb 5-15 Minuten vollständig aushärten lassen.

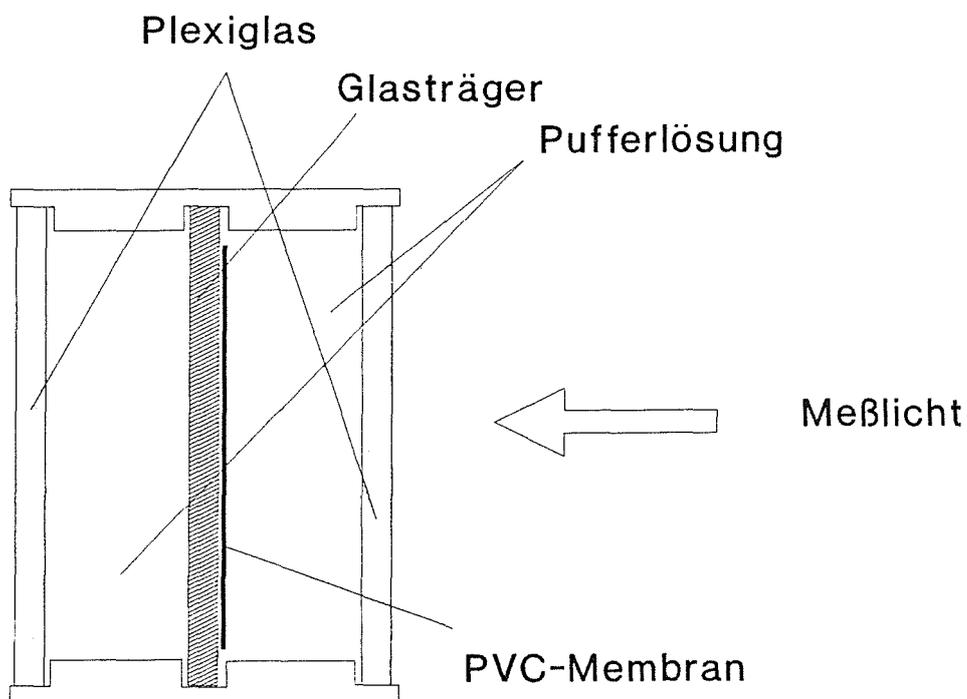
Um ein Ablösen der nach Methode 1 bzw. 2 hergestellten Membranen bei längerem Wasserkontakt zu verhindern, wurden sie in beiden Fällen an den Rändern mit Silikonklebstoff (E41, Wacker, Burghausen) fixiert. Im weiteren werden diese sensitiven Schichten als "PVC-Sensor" bezeichnet.

Die Schichtdicke der Membranen wurde annähernd bestimmt, indem an einer Schnittkante unter dem Mikroskop einmal auf die Oberfläche der Membran und zum zweiten auf die Oberfläche des Glasträgers fokussiert wurde. Auf diese Weise lassen sich Schichtdicken bis zu 10  $\mu\text{m}$  bestimmen.

#### 4.4. Absorptions-/Reflexionsmessung

##### 4.4.1. Apparatives

Die Absorptions- und Reflexionsmessungen wurden mit einem Zweistrahlabsorptionsphotometer (Fa. Shimadzu, Modell UV 2100; Duisburg) durchgeführt. Als Meßküvette für die Sensoren diente ein Gefäß aus PVC mit Plexiglasfenstern (Fassungsvermögen 6 ml, Abbildung 18).

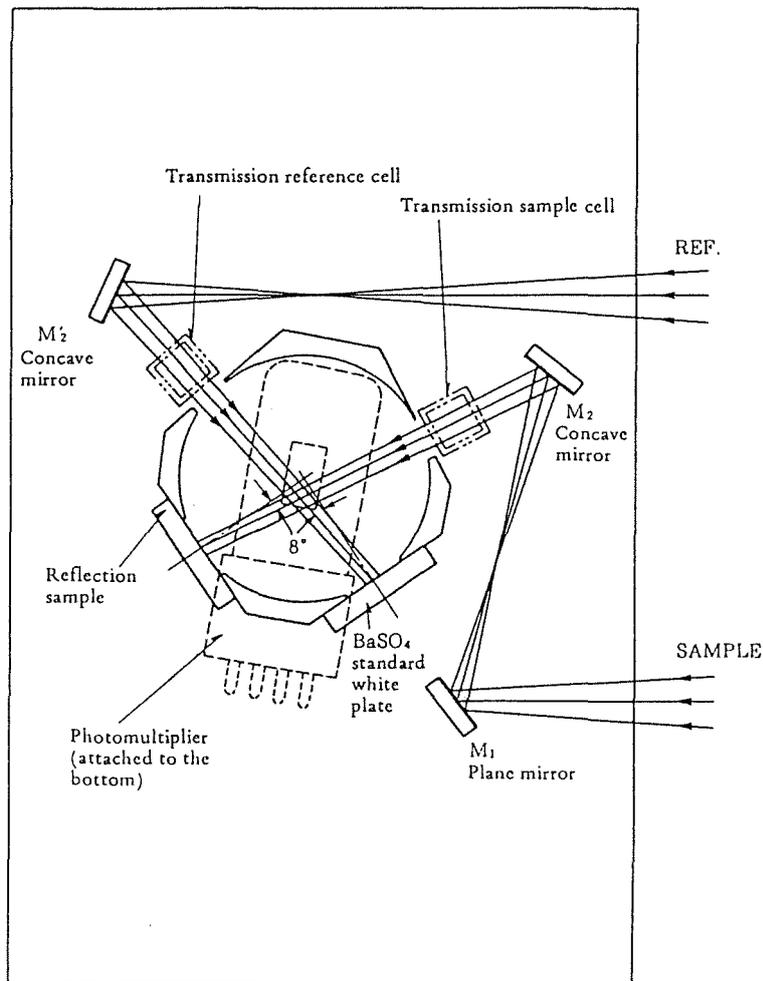


**Abb. 18: Meßküvette für Transmissionsmessung (Aufsicht)**

Um PVC-Sensoren in Transmission messen zu können, wurde eine spezielle Küvette gebaut, bei der der Glasträger mit der sensitiven Schicht (PVC-Membran) mittels einer Nut in den Seitenwänden gehalten wurde.

Die Glasplatten mit der sensitiven Schicht wurden in diesem Gefäß durch eine Längsnut an den Seitenwänden gehalten und konnten dadurch reproduzierbar ins Spektrometer zur Messung eingebracht werden. Als Referenz diente Luft. Die Küvetten waren bis 400 nm einsetzbar, unterhalb davon war eine in den UV-Bereich zunehmende Eigenabsorption der Küvette feststellbar.

Für die Reflexionsmessungen wurde der Reflexionseinsatz für das Shimadzu-Photometer (Integrating Sphere Assembly ISR-260) verwendet. Der optische Aufbau dieser Integrationskugel ist in Abbildung 19 schematisch dargestellt.

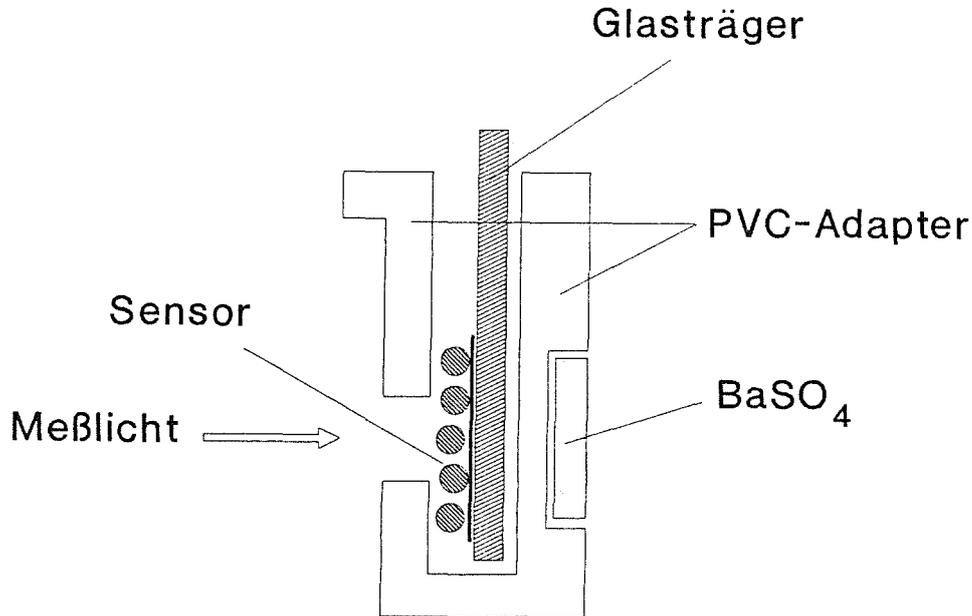


**Abb. 19: Optischer Aufbau des Reflexionseinsatzes [72]**

Für die Remissionsmessungen wurde eine Integrationskugel eingesetzt, und die Remissionspektren der VA-Sensoren gegen einen BaSO<sub>4</sub>-Standard aufgenommen.

Als Referenz diente  $\text{BaSO}_4$ -Pulver.

Für den Reflexionseinsatz wurde zur Untersuchung der Sensoren der in Abbildung 20 dargestellte Probenhalter entworfen.



**Abb. 20: Probenhalter für Reflexionsmessungen**

Da die sensitiven Schichten der VA-Sensoren aufgrund ihrer geringen Dicke noch einen beträchtlichen Transmissionsanteil aufwiesen, wurde ein Probenhalter gebaut, der das transmittierte Licht an einer  $\text{BaSO}_4$ -Schicht reflektierte.

#### 4.4.2. Durchführung der spektroskopischen Messungen

Für die spektrophotometrischen Untersuchungen in wässriger Lösung wurde eine Stammlösung von TPPS in Tris-Puffer ( $1,5 \cdot 10^{-5}$  mol/l; pH = 9,0) hergestellt. 3 ml dieser Lösung wurden mit 1 ml Probenlösung in einer Einwegabsorptionsküvette gemischt, und nach 20 Minuten die Spektren gegen eine Farbstoffblind- oder reine Pufferlösung registriert.

Bei den die PVC-Membran simulierenden Messungen mit organischen Lösungsmitteln (1,2-Dichlorethan und n-Butylacetat) wurde die

wässrige Probenlösung mit der organischen Farbstofflösung ausgeschüttelt und das Absorptionsspektrum der organischen Phase nach der Entmischung der Lösungen mit einer Quarzküvette gegen eine Blindlösung aufgenommen.

Die Sensoren wurden nur über die Dauer der Spektrenaufnahme in die im vorherigen Abschnitt beschriebenen Probenhalter überführt. Ansonsten wurden sie außerhalb des Spektrometers in einer gerührten Probenlösung im Becherglas abgedunkelt stehen lassen. Das Abdunkeln sollte eine eventuelle photochemische Zerstörung des immobilisierten Farbstoffs durch das Tageslicht verhindern. Zwischen verschiedenen Meßreihen wurden die Sensoren in Pufferlösung aufbewahrt (ebenfalls im Dunkeln). VA-Sensoren wurden in Reflexion und PVC-Sensoren in Transmission gemessen.

#### 4.5. Fehlerbetrachtung

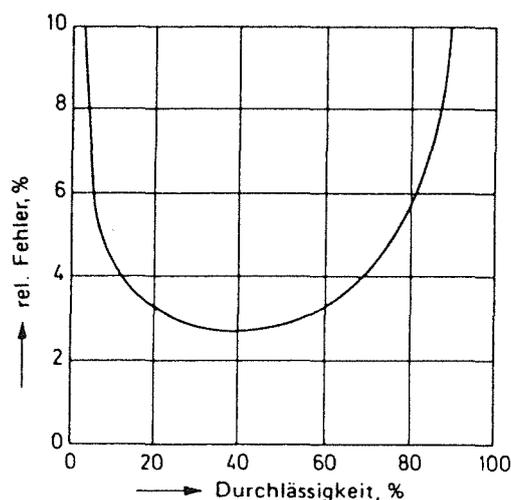
Die Genauigkeit aller durchgeführten Messungen wurden mit Hilfe der Standardabweichung 's' abgeschätzt.

$$(17) \quad s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x')^2}{n - 1}}$$

$x$  = Meßwert  
 $n$  = Zahl der Messungen  
 $x'$  = arithmetischer Mittelwert

Zur Berechnung der Standardabweichung nach Gleichung (17) wurden im Rahmen dieser Arbeit (sofern nicht anders angezeigt) drei bis vier unabhängig voneinander ermittelte Meßwerte eingesetzt, so daß die angegebenen Standardabweichungen lediglich Näherungen darstellen.

Bei photometrischen Analysen ist zu beachten, daß der relative Meßfehler von Photometern (Abbildung 21) sowohl bei kleinen als auch bei großen Transmissions- bzw. Remissionswerten steil ansteigt.



**Abb. 21: Fehlerkurve eines Photometers [73]**

Die Kurve zeigt den relativen Fehler bei photometrischen Messungen aufgetragen gegen die Transmission (Durchlässigkeit). Der Meßfehler wird vor allem bei kleinen und großen Transmissionen erheblich.

Dieses Verhalten weisen sämtliche Geräte auf, es bestehen nur Unterschiede in der absoluten Größe der Fehler und in geringerem Maße auch in der Lage des Minimums (laut Herstellerangaben beträgt die photometrische Genauigkeit beim verwendeten Spektrometer  $\pm 0,002$  im Bereich von 0 - 0,5 Extinktionseinheiten und  $\pm 0,004$  im Bereich von 0,5 - 1 Extinktionseinheiten).

Die in Abschnitt 5 angegebenen Geradengleichungen des Typs

$$y = b \cdot x + a$$

sind Regressionsgeraden, die nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate ermittelt wurden. Die Regressionskoeffizienten 'a' und 'b' werden nach folgenden Gleichungen berechnet:

$$(18) \quad b = \frac{\Sigma(x_i - x')(y_i - y')}{\Sigma(x - x')^2}$$

$x', y'$  = arithmetische Mittelwerte  
 $x_i, y_i$  = Wertepaar für eine Messung

$$(19) \quad a = y' - b \cdot x' \quad a, b = \text{Regressionskoeffizienten}$$

Der Korrelationskoeffizient 'r', der ein Maß für den linearen Zusammenhang zwischen den Wertepaaren ist, wurde gemäß Gleichung (20) ermittelt:

$$(20) \quad r = \frac{\Sigma(x_i - x')(y_i - y')}{\sqrt{\Sigma(x_i - x')^2 \cdot \Sigma(y_i - y')^2}} \quad r = \text{Korrelationskoeffizient}$$

Die mittlere Abweichung 's<sub>x.y</sub>' der Meßwerte von der Regressionsgeraden errechnet sich nach Gleichung (21):

$$(21) \quad s_{x.y} = \sqrt{\frac{\Sigma(y_i - \Gamma_i)^2}{n-2}} \quad \begin{array}{l} s_{x.y} = \text{Mittlere Abweichung von} \\ \text{der Regressionsgeraden} \\ y_i = \text{gemessener Wert} \\ \Gamma_i = \text{aus der Regressionsgeraden} \\ \text{berechneter Wert} \end{array}$$

Für die Ermittlung einer Nachweisgrenze beim photometrischen Nachweis und bei den getesteten sensitiven Schichten, wurde entweder die Standardabweichung von Meßwerten nahe der Nachweisgrenze oder die mittlere Abweichung der Meßwerte 's<sub>x.y</sub>' von der Regressionsgeraden zur Berechnung gemäß Gleichung (22) verwendet.

$$(22) \quad c_{\text{Grenz}} = \frac{s \cdot t_{n,\alpha}}{b} - a \quad \begin{array}{l} c_{\text{Grenz}} = \text{Nachweisgrenze} \\ s = \text{Standardabweichung} \\ t_{n,\alpha} = \text{t-Wert der Student-Verteilung} \\ n = \text{Zahl der Freiheitsgrade} = \\ \quad (\text{Zahl der Meßwerte}) - 1 \\ \quad (\text{beim einseitigen Test}) \\ \alpha = \text{Irrtumswahrscheinlichkeit} \\ a, b = \text{Regressionskoeffizienten} \end{array}$$

Der t-Wert wurde aus der in Anhang A3 angegebenen Tafel entnommen.

Wie in Abschnitt 3.3.5. beschrieben, ist die Nachweisgrenze abhängig von der eingesetzten Menge an Farbstoff und terminiert durch das Auflösungsvermögen des Spektrometers. Im vorliegenden Fall wurde experimentell festgestellt, daß die Nachweisgrenze bei einer Cadmiumkonzentration liegt, die dem 0,005-fachen der Konzentration an eingesetztem Farbstoff entspricht. Der Faktor wird im folgenden mit ' $\delta$ ' bezeichnet. Unter der Annahme, daß dieser Sachverhalt beim immobilisierten Farbstoff ebenfalls gültig sei, ist es möglich, die Nachweisgrenze abzuschätzen. Die Farbstoffkonzentration läßt sich über die Extinktion  $E_{\text{Soret}}$  bzw. die relative Remission  $(R_{\infty}')_{\text{Soret}}$  der Soret-Bande nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz (Gleichung 2) bzw. entsprechend der Konzentrationsabhängigkeit der Kubelka-Munk-Funktion ' $F(R_{\infty})$ ' (Gleichung 6) berechnen. Für die Abschätzung der Nachweisgrenze ergeben sich daraus folgende Beziehungen:

$$(23) \quad c_{\text{Grenz}} = \delta \cdot \frac{E_{\text{Soret}}}{\epsilon \cdot d}$$

$\delta$  = Faktor gegeben durch die Spektrometereigenschaften  
 $E_{\text{Soret}}$  = Extinktion im Maximum der Soret-Bande  
 $d$  = Schichtdicke  
 $\epsilon$  = molarer Extinktionskoeffizient

$$(24) \quad c_{\text{Grenz}} = \delta \cdot \frac{F(R_{\infty}')_{\text{Soret}} \cdot s}{\epsilon}$$

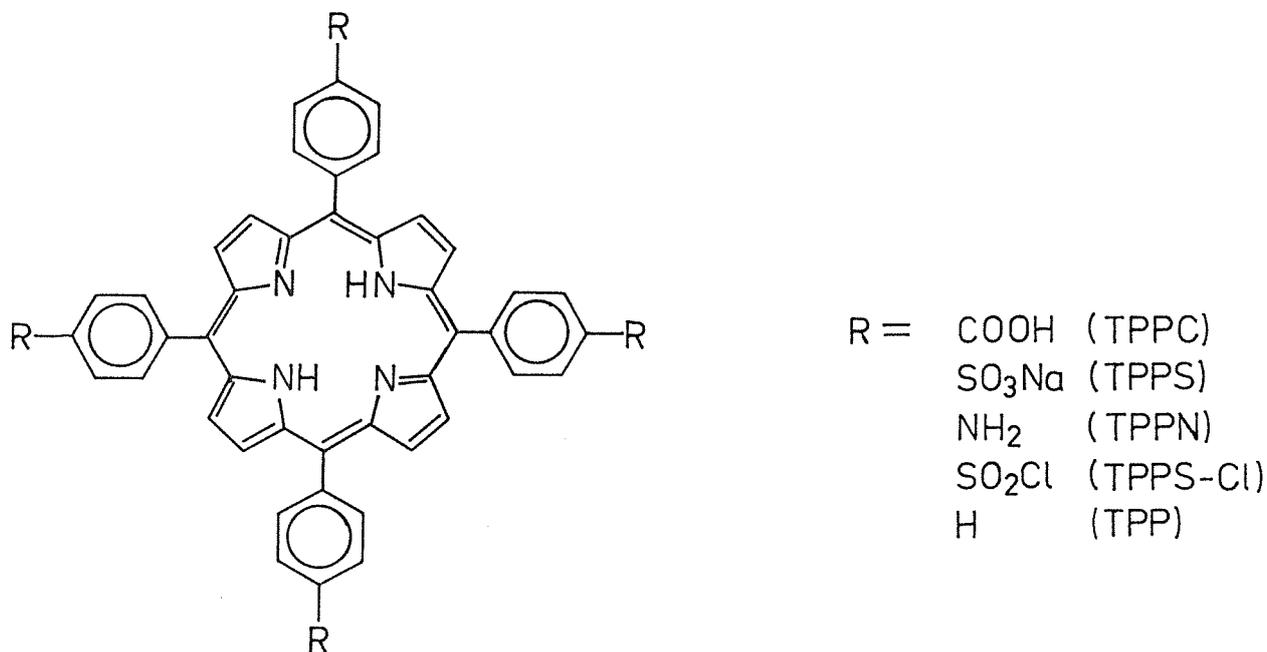
$F(R_{\infty}')_{\text{Soret}}$  = Kubelka-Munk-Funktion errechnet aus der relativen Remission der Soret-Bande  
 $s$  = Streukoeffizient

Fehlerursachen, die unabhängig von den Meßmethoden auftreten, liegen in den Ungenauigkeiten der Probenvorbereitungen begründet (Einwaage, Pipettierung etc.).

## 5. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

### 5.1. Photometrischer Nachweis von Cadmium

Für die spektroskopische Bestimmung von Cadmiumionen in wässrigen Lösungen wurden die unterschiedlichsten Komplexbildner vorgestellt. Aus der Vielzahl der möglichen Indikatoren wurden in der vorliegenden Arbeit die abgebildeten Porphyrinderivate (Abbildung 22) zur spektrophotometrischen Bestimmung gewählt.



**Abb. 22: Verwendete Porphyrinderivate**

Die in dieser Arbeit verwendeten Porphyrinderivate waren 5,10,15,20-meso-Tetra(p-carboxyphenyl)porphyrin (TPPC), das gut wasserlösliche Na-Salz von 5,10,15,20-meso-Tetra(p-sulfophenyl)porphyrin (TPPS) und 5,10,15,20-meso-Tetra(p-aminophenyl)porphyrin (TPPN), die wegen der funktionellen Gruppen am Phenylring zur Immobilisierung an eine feste Matrix geeignet sind, sowie 5,10,15,20-meso-Tetraphenylporphyrin (TPP), das aufgrund seiner hydrophoben Natur bei den PVC-Sensoren angewendet wurde.

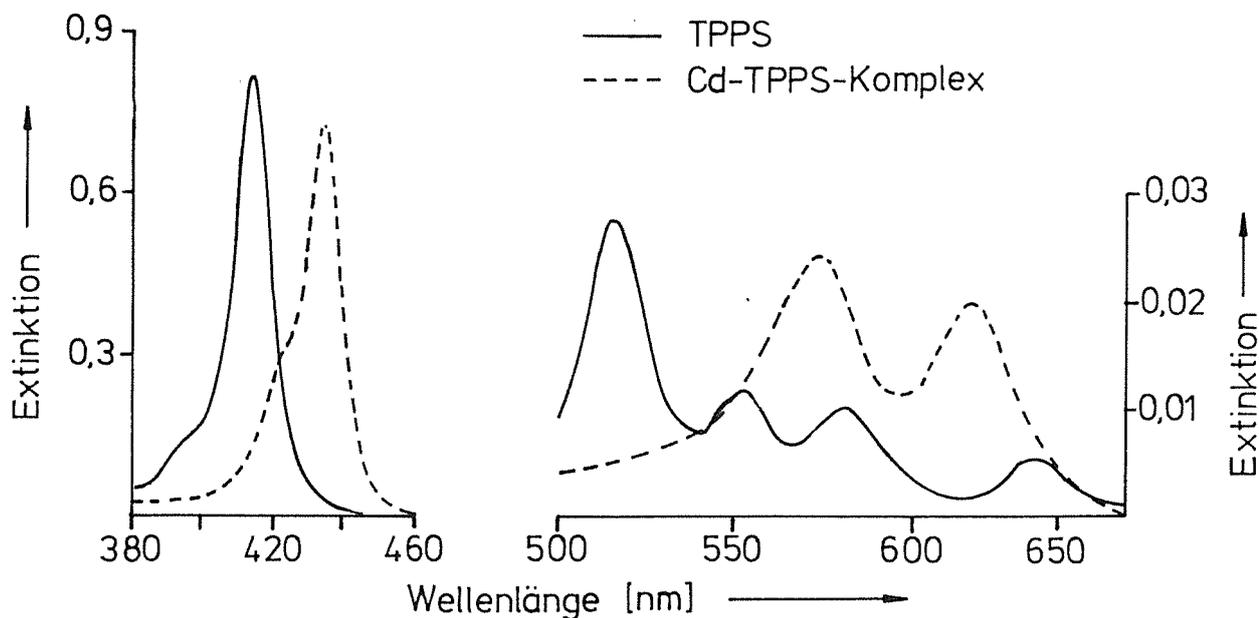
In der Literatur wurden Verfahren vorgestellt, die Cadmium mit Porphyrinen als Indikator nachweisen [74,75]. Aufgrund seiner guten Wasserlöslichkeit eignet sich *meso*-Tetra-(*p*-sulfophenyl)-porphyrin (im folgenden als TPPS abgekürzt) für die Entwicklung eines photometrischen Nachweises. Außerdem besteht die Möglichkeit über die Sulfonsäurereste ohne Beeinflussung des Komplexbildungszentrums im Inneren des Porphyringerüsts den Farbstoff an eine polymere Matrix zu binden. Tabata und Tanaka verwendeten TPPS um Cadmium zu bestimmen, indem der katalytische Effekt der Cadmiumionen auf die Komplexbildung von Mangan mit TPPS genutzt wurde [76].

Im Hinblick auf eine Sensorentwicklung sollte die gewählte Nachweisreaktion auf der direkten Komplexbildung des Analytens basieren. Aus diesem Grund wurde zunächst untersucht, ob Cadmium mit Hilfe von TPPS direkt zu bestimmen sei. In Abbildung 23 sind die Absorptionsspektren von TPPS (durchgezogene Kurve) und dem Cd(II)-TPPS-Komplex (gestrichelte Kurve) gezeigt.

Es stellte sich heraus, daß der Cadmium-TPPS-Komplex in alkalischem Medium bei 433 nm eine um 10 nm zur Farbstoffbande rotverschobene Absorptionsbande ausbildet. Zunächst wurden die optimalen Bedingungen für die Komplexbildung ermittelt, und daraus ein photometrisches Nachweisverfahren entwickelt, da sich der Einfluß von Matrix und Immobilisierung auf das Komplexbildungsverhalten des Liganden nur bestimmen läßt, wenn dessen Eigenschaften hinreichend bekannt sind.

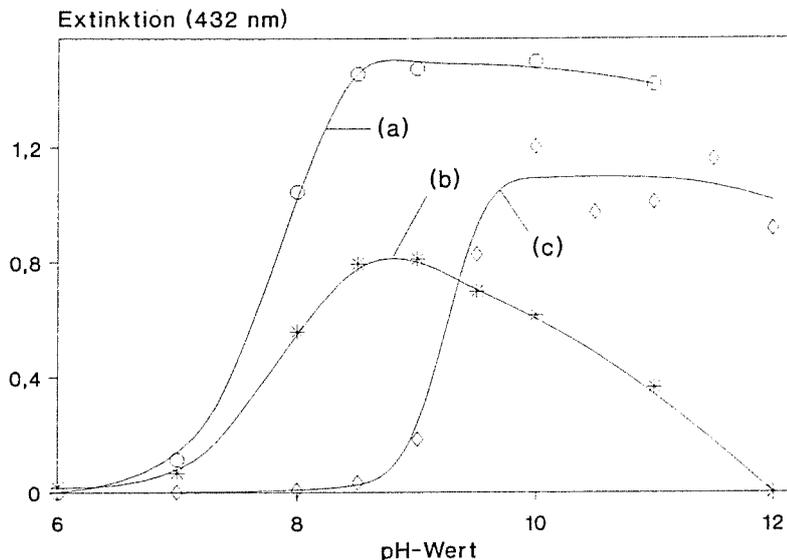
Die pH-Abhängigkeiten der Komplexbildung sind in Abbildung 24 für verschiedene Puffersysteme dargestellt.

Es wurde bei diesen Messungen festgestellt, daß die pH-Abhängigkeit der Komplexbildung bei verschiedenen Puffersystemen variiert.



**Abb. 23: Absorptionsspektren von TPPS und Cd(II)-TPPS-Komplex**

Werden zu einer alkalischen TPPS-Lösung Cadmiumionen gegeben, so verändert sich das Absorptionsspektrum des Farbstoffs (durchgezogene Linie) derart, daß die Absorptionsbanden ins Rote verschoben werden. Die sich bei 433 nm ausbildende Bande des Cd-TPPS-Komplexes (gestrichelte Linie) kann aufgrund des hohen molaren Extinktionskoeffizienten genutzt werden, um einen sehr empfindlichen, photometrischen Nachweis für Cadmium zu entwickeln.



**Abb. 24: Einfluß verschiedener Puffersysteme**

Die pH-Abhängigkeit der Cadmiumkomplexierung wurde mit folgenden Puffersystemen überprüft:

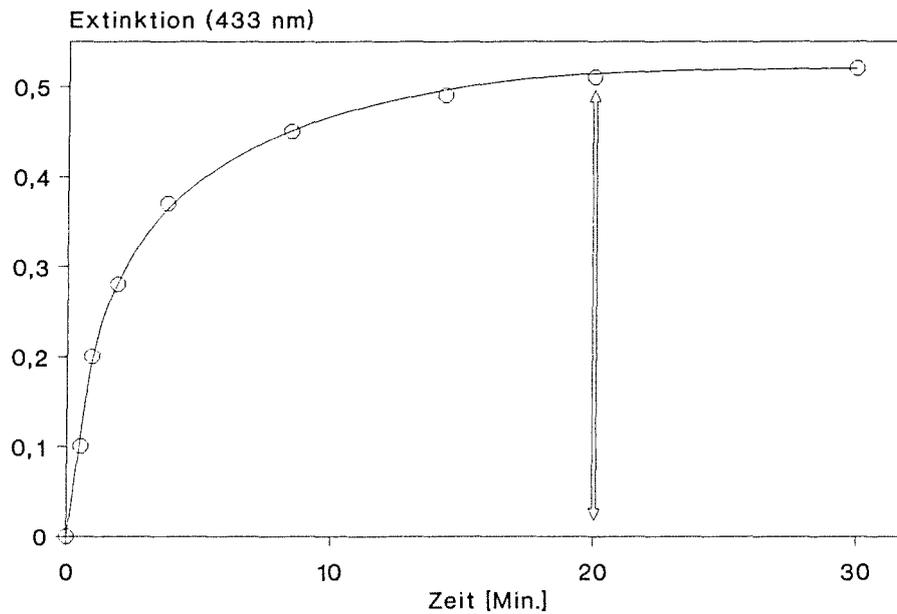
- Tris(hydroxymethyl)aminomethan/HCl bzw. KOH (0,01 mol/l),
- Glycin/KOH (0,01 mol/l) und
- NaOH/KCl (0,1 mol/l).

Die Farbstoffkonzentration betrug  $10 \mu\text{mol/l}$  und die Cadmiumkonzentration  $3 \mu\text{mol/l}$ . Die Messung der Extinktion bei 432 nm erfolgte nach 30 Minuten.

Das Puffersystem Tris/HCl wurde bei den nachfolgenden Messungen verwendet, da es zum einen die größte Extinktion bei gegebener Cadmium-Konzentration aufwies (günstig für Nachweisempfindlichkeit) und zum zweiten die Extinktionswerte ab  $\text{pH} = 8,5$  zu höheren  $\text{pH}$ -Werten hin ein Plateau ausbilden. Im Hinblick auf die Messung mit den Sensoren sollte der Anstieg zum Plateau nicht zu weit im alkalischen Bereich liegen, da die chemische Bindung bei zu hohen  $\text{pH}$ -Werten wieder durch eine alkalische Verseifung zerstört werden kann. Obwohl gewöhnlich für ein photometrisches Verfahren der  $\text{pH}$ -Wert so gewählt wird, daß man sich etwa in der Mitte des Plateaus befindet, wurde für die weiteren Untersuchungen aus den genannten Gründen ein  $\text{pH}$ -Wert von 9,0 gewählt. Zum einen ist die Pufferkapazität des Systems Tris/HCl in diesem Bereich hinreichend gut (Pufferbereich: 6,7-9,3). Zum zweiten liegt der  $\text{pH}$ -Wert im Hinblick auf die Messung an Sensoren nicht zu hoch, um möglicherweise chemische Bindungen durch eine alkalische Verseifung zu zerstören.

Die Bildung des Cd-TPPS-Komplexes ist nach 20 Minuten abgeschlossen (Abbildung 25). Danach ist der Komplex selbst bei der Bestrahlung mit weißem Licht über 24 Stunden stabil (Abweichung  $\leq 5\%$ )! Dies ist deshalb bemerkenswert, weil in der Literatur Cd-TPP-Komplexe [13] bzw. Cd-TPPS-Komplexe [77] als lichtempfindlich beschrieben werden. Hinsichtlich der Sensorentwicklung ist eine photochemische Stabilität der Sensorschicht wünschenswert. Dieser Parameter ist damit vom verwendeten Farbstoff sehr gut erfüllt.

Ein für die Entwicklung von Optroden ebenfalls wichtiger Parameter ist das Verhältnis von Metallion zu Ligand. Angestrebt wird eine (1:1)-Stöchiometrie, da Chelate anderer Zusammensetzung - vor allem diejenigen mit Ligandenüberschuß - eine spezielle Geometrie zur Komplexbildung erfordern.



**Abb. 25: Kinetik der Cadmiumkomplexierung**

Wird die Extinktion bei 433 nm gegen die Zeit aufgetragen, so zeigt sich, daß die Bildung des Cadmium-TPPS-Komplexes nach 20 Minuten abgeschlossen ist. Der ausgebildete Komplex ist photochemisch sehr stabil (bei Bestrahlung mit weißem Licht > 24 Stunden).

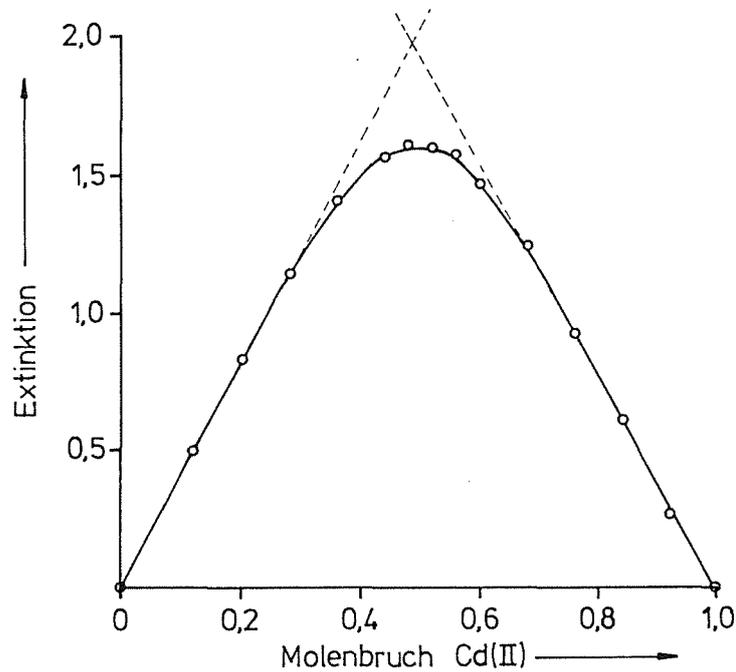
( $c_{\text{TPPS}} = 7,5 \mu\text{mol/l}$ ;  $c_{\text{Cd}} = 1 \mu\text{mol/l}$ ;  $\text{pH} = 9,0$ )

Durch die Immobilisierung kann dann eine Komplexierung möglicherweise erschwert bzw. verhindert werden, da die immobilisierten Indikator-moleküle aufgrund sterischer Behinderungen nicht mehr die notwendige räumliche Anordnung einnehmen können.

Der in Abbildung 26 dargestellte Job's-plot [78] ergab eine (1:1)-Stöchiometrie des Cd-TPPS-Komplexes. Dies läßt aus den erwähnten Gründen vermuten, daß Cadmium auch vom immobilisierten Farbstoff komplexiert wird, da für jedes Cadmiumion nur ein Farbstoffmolekül benötigt wird. Die Komplexierung von Cadmium sollte demzufolge von der räumlichen Anordnung der Farbstoffmoleküle auf der Matrix nur unwesentlich beeinflußt werden.

Nach der Methode von Benesi und Hildebrand [79] wurde die Dissoziationskonstante des Komplexes bestimmt. Sie hat einen Wert von  $K_D = 2,7 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ . Unter der Annahme, daß sich der  $K_D$ -Wert des

Komplexes nach der Immobilisierung nicht oder nur wenig verändert, ist es möglich, optisch detektierbare Mengen des Farbstoffs einzusetzen ohne das Komplexbilddgleichgewicht auf Seiten des Komplexes zu verschieben (vgl. Abschnitt 3.3.5.), d.h. ein Sensoraufbau, der reversibel auf Cadmium reagiert, sollte mit diesem Farbstoff entwickelt werden können.



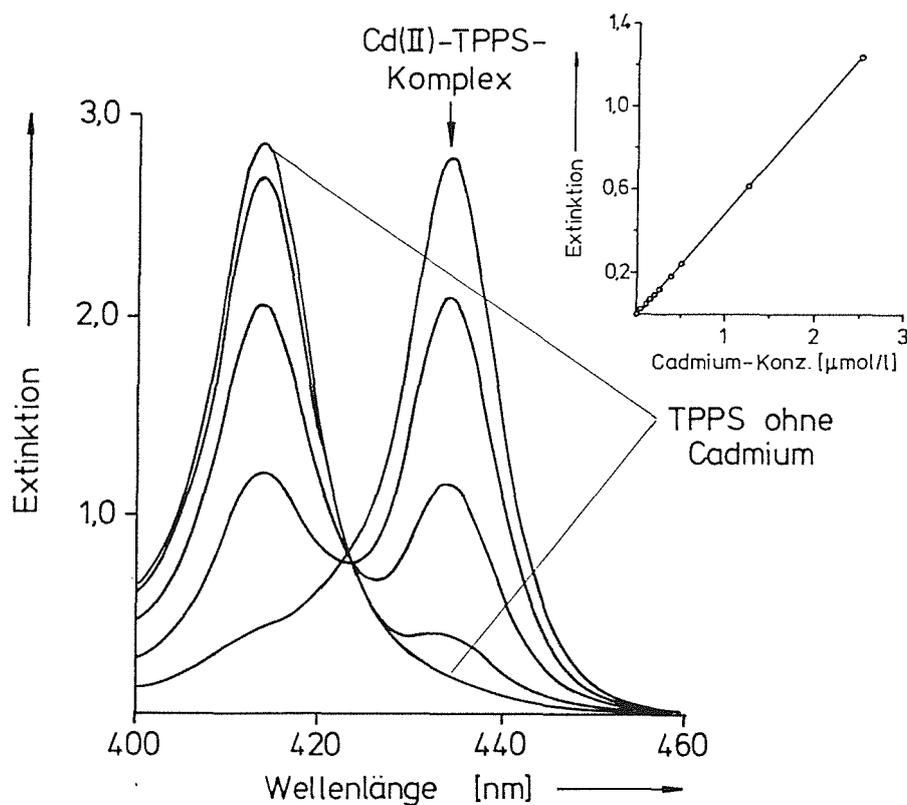
**Abb. 26: Job's plot [78]**

Durch kontinuierliche Veränderung der Konzentration des Analytens und des Liganden (konstante Gesamtmolarität) kann die Stöchiometrie des Komplexes durch Auftragung der Extinktion gegen den Molenbruch ermittelt werden. Die Regressionsgeraden der beiden linearen Äste schneiden sich bei 0,49, d.h. der ausgebildete Cd-TPPS-Komplex besitzt eine (1:1)-Stöchiometrie.  
( $c_{\text{Cd}} + c_{\text{TPPS}} = 10 \mu\text{mol/l}$ ;  $\text{pH} = 9,0$ )

Die Änderung des Absorptionsspektrums von TPPS im Bereich der Soret-Bande ist in Abbildung 27 mit steigender Cadmiumkonzentration dargestellt. Die mit Hilfe einer Regressionsanalyse ermittelte Eichgerade wird durch folgende Gleichung beschrieben:

$$(21) \quad E(434 \text{ nm}) = 49.097,3 c_{\text{Cd}} + 0,0016 \quad (r = 0,9993)$$

Aufgrund des hohen Extinktionskoeffizienten des Cadmiumkomplexes ( $\epsilon(434 \text{ nm}) = 4,9 \cdot 10^5 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) ist die Nachweisgrenze des photometrischen Nachweises niedrig. Sie beträgt  $c_{\text{Grenz}} = 6,3 \cdot 10^{-8} \text{ mol/l}$  Cadmium ( $7 \text{ } \mu\text{g/l}$ ). Dieser Wert wurde ermittelt, indem die Standardabweichung  $s = 0,0014$  des Mittelwerts der Extinktion von fünf Messungen ( $c_{\text{Cd}} = 10^{-7} \text{ mol/l}$ ) in Gleichung (20) eingesetzt wurde.



**Abb. 27: Absorptionsspektren von TPPS mit steigender Cadmiumkonzentration**

Die Cadmiumkonzentrationen betragen 0; 1; 2,5; 4 und 15  $\mu\text{mol/l}$ . Der Einschub zeigt eine Eichgerade für diesen Nachweis. Die Nachweisgrenze beträgt 0,06  $\mu\text{mol/l}$  Cadmium. ( $c_{\text{TPPS}} = 10 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ;  $\text{pH} = 9,0$ )

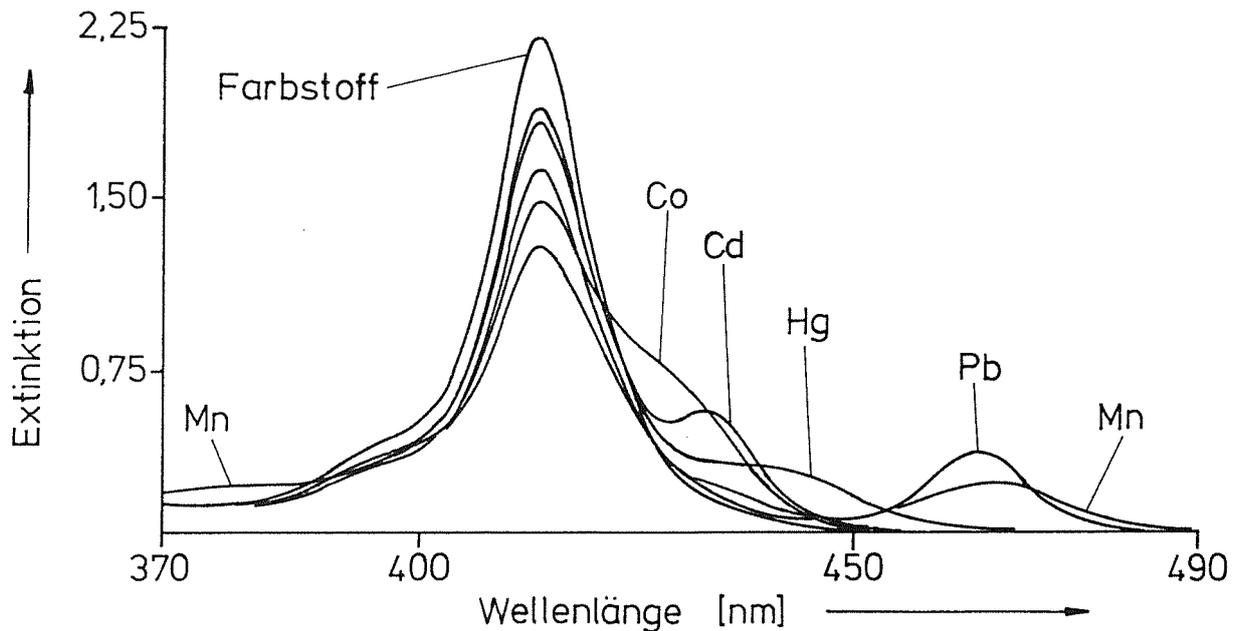
Der photometrische Nachweis von Cadmium mit TPPS wird durch die Anwesenheit anderer Ionen in der Probenlösung gestört. In Tabelle 3 sind die Toleranzgrenzen für diese Ionen angegeben.

**Tabelle 3: Interferenz anderer Ionen in der Probenlösung**

Interferierendes Ion	Toleranzgrenze a)
Acetat, Tetrat, $\text{NO}_3^-$ , $\text{SO}_4^{2-}$ , $\text{PO}_4^{3-}$	2000 b)
Borat, Ca(II)	500
Citrat	400
Ba(II), Mg(II)	200
Al(III), Rb(I), Sr(II)	150
Ag(I), As(III), Ga(III)	100
Cs(I), Ni(II)	50
Cu(II)	20
In(III)	10
Fe(III)	5
Cr(III), Sn(II), Zn(II)	2
Co(II), Pb(II), Mn(II)	1
Hg(II)	0,1
EDTA	< 0,1

a) Als Toleranzgrenze ist das Verhältnis der Konzentration des interferierenden Ions zur Cd(II)-Konzentration angegeben, das eine Veränderung der Extinktion der eingesetzten Cd-Lösung ( $c_{\text{Cd}} = 0,25 \mu\text{mol/l}$ ) um jeweils  $\leq \pm 5\%$  bewirkt.

b) Höchstes getestetes Konzentrationsverhältnis

**Abb. 28: Spektren verschiedener Metalloporphyrine**

Die verschiedenen Metall-TPPS-Komplexe zeichnen sich durch ihre unterschiedlichen Absorptionsspektren aus. Dies ermöglicht die Unterscheidung der Metallionen in der Probelösung und erhöht somit die Selektivität des Cadmiumnachweises. Außerdem besteht dadurch die Möglichkeit mehrere Ionen gleichzeitig zu bestimmen.

Der Anteil des störenden Ions 'M' läßt sich spektroskopisch ermitteln. Das ist für einige stark interferierende Übergangsmetallionen in Abbildung 28 dargestellt.

Wie Abbildung 28 zeigt, unterscheiden sich die Spektren der diversen M-TPPS-Komplexe. Diese Unterschiede bieten die Möglichkeit durch Auswertung der Spektren über statistische Methoden, die Anteile der verschiedenen Spezies zu ermitteln, und dadurch die Selektivität für den Cadmiumnachweis zu erhöhen.

Dies sollte durch die Anwendung des statistischen Auswerteprogramms FACTANAL [80] geprüft werden. FACTANAL erlaubt die Durchführung einer Principal-Component- und einer Target-Factor-Analyse von Matrizen physikalischer oder chemischer Daten. Als Daten für die Berechnung dienten die in Lösung gemessenen Absorptionsspektren von Mischungen aus Cd(II)-, Pb(II)- und Hg(II)-TPPS-Komplexen. Es zeigte sich, daß diese drei Schwermetallionen nebeneinander mit Hilfe von TPPS als Reagensfarbstoff quantitativ nachgewiesen werden können [81]. Dadurch wird auch die Selektivität verbessert, wie das folgende Beispiel zeigt. Bei einem zweifachen Überschuß an Quecksilber wurde die eingesetzte Menge Cadmium vollständig wiedergefunden, d.h. die beim zuvor beschriebenen photometrischen Nachweis ermittelte Toleranzgrenze konnte um den Faktor 20 erhöht werden.

**Tabelle 4: Wiederfindungsraten von Cadmium bei Anwendung von FACTANAL**

Störion	Hg(II)	Pb(II)	Hg(II) und Pb(II)
Anzahl der Meßdaten	4	4	6
Wiederfindungsrate [%]	99,9	99,9	99,9

In Tabelle 4 sind die Wiederfindungsraten (Verhältnis von gefundener Konzentration zu eingesetzter Konzentration) für Cadmium

bei Anwesenheit von Quecksilber und/oder Blei aufgelistet (vgl. auch Anhang A4). Die aus allen Daten berechnete Wiederfindungsrate für Cadmium beträgt 99,95 %.

Zusammenfassend sei festgehalten, daß das gewählte Porphyrinderivat sich aus mehreren Gründen für die Herstellung eines optischen, chemischen Sensors geradezu anbietet:

Die für eine chemische Immobilisierung in Frage kommenden funktionellen Gruppen - Substituenten an den Phenylresten - unterscheiden sich von den zur Komplexierung benötigten. Durch eine chemische Immobilisierung wird somit die Komplexierungsfähigkeit des Indikators nicht eingeschränkt. Der optimale pH-Wert für den Nachweis kann ohne Verringerung der Nachweisempfindlichkeit so gewählt werden, daß eine alkalische Verseifung der chemischen Bindung beim immobilisierten Farbstoff nicht zu erwarten ist. Die Komplexierungsdauer von 20 Minuten ist genügend kurz und wird bei der Entwicklung der Cadmium-sensitiven Schichten angestrebt. Aufgrund der (1:1)-Stöchiometrie muß der immobilisierte Farbstoff zur Komplexierung keine besondere Geometrie auf der Matrix einnehmen. Der hohe molare Extinktionskoeffizient des Cadmiumkomplexes führt zu einem sehr sensitiven Nachweis (Nachweisgrenze  $c_{\text{Grenz}} = 7 \mu\text{g/l}$ ). Die Selektivität des Farbstoffes entspricht der anderer photometrischer Indikatoren, kann aber zusätzlich aufgrund der unterschiedlichen Absorptionsspektren anderer Metall-TPPS-Komplexe durch die Anwendung statistischer Auswertemethoden verbessert werden.

## **5.2. Orientierende Experimente zur Wahl der Matrix und der Immobilisierungstechnik**

Bei der Auswahl der verwendeten Matrix standen zwei Aspekte im Vordergrund. Zum einen sollte die Matrix über funktionelle Gruppen verfügen, die eine leichte, chemische Immobilisierung ermöglichen. Die Immobilisierungsreaktion selbst sollte über wenige Reaktionsstufen verlaufen, um eine schnelle und reproduzierbare

Herstellung der sensitiven Schichten zu gewährleisten. Hierfür eignen sich pulverförmige Polymere. Zum zweiten sollte es möglich sein, dünne Membranen des verwendeten Polymers erzeugen zu können. Diese Möglichkeit ist dann gegeben, wenn das Polymer in einem Lösungsmittel mit hohem Dampfdruck löslich ist. Der Einsatz von Membranen als Matrix ist aus folgenden Gründen zu bevorzugen: Gegenüber einem porösen Pulver bieten sie den Vorteil, daß aufgrund kurzer Diffusionswege Ansprechzeiten realisierbar sein sollten, die der Reaktionskinetik des freien Reagens' in Lösung entsprechen sollten. Außerdem können mit dieser Matrix "sensitive" Beschichtungen aufgebracht werden, was aus Sicht der Meßtechnik von Vorteil sein kann (vgl. intrinsischer Sensor, "ATR"-Spektroskopie [82], waveguide-Küvetten [83,84] etc.).

**Tabelle 5: Matrices für Cadmium-sensitive Schichten**

Matrix \ Farbstoff	Morin		TPP		TPPN			TPPS		
	I	III	I	III	I	II	III	I	II	III
BioRex-Austauscherharz								2	+	-
RAI-Austauschermembran	2	-						2	-	
Nylon-Netz					3	-		3	-	
Cellophan-Folie	3	-			3	+	a)	3	+	-
Poly(vinylalkohol) (PVA)	3	b)			3	-		3	+	+
Poly(vinylchlorid) (PVC)	1	-	1	+				1	+	+
VA-Expoxy-Pulver	3	-			3	+	+	3	+	+

I = Immobilisierung (1=adsorptiv; 2=elektrostatistisch; 3=chemisch)

II = Reaktion auf Änderung des pH-Wertes

III = Reaktion mit Cadmium

+ = Reversible Reaktion

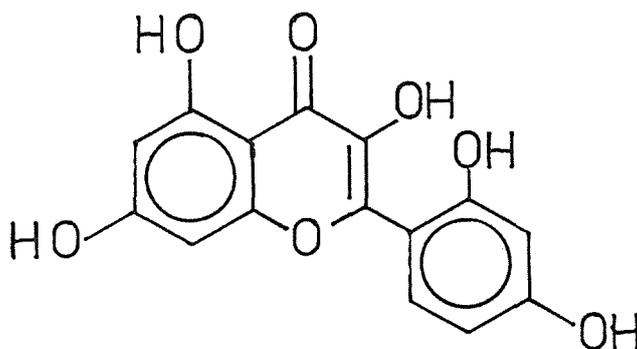
- = Keine oder irreversible Reaktion

a) Reaktion mit Cadmium wurde nicht überprüft.

b) Statt Erhöhung der Fluoreszenz, wie in [85] beschrieben, konnte nur eine Fluoreszenzlöschung beobachtet werden.

Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die verschiedenen getesteten Matrices und Immobilisierungstechniken.

Zum Beispiel wurde versucht gemäß Pal und Mitarbeitern [85] Cadmium mit dem abgebildeten Farbstoff Morin (3,5,7,2',4'-Pentahydroxyflavon; Abbildung 29) über ein fluorimetrisches Verfahren nachzuweisen.



**Abb. 29: Morin**

3,5,7,2',4'-Pentahydroxyflavon (Morin) ist ein fluorimetrisches Nachweisreagens für verschiedene Metallionen. Die Komplexierung erfolgt im Falle des Cd(II) durch die Hydroxygruppen in Position 3 bzw. 5.

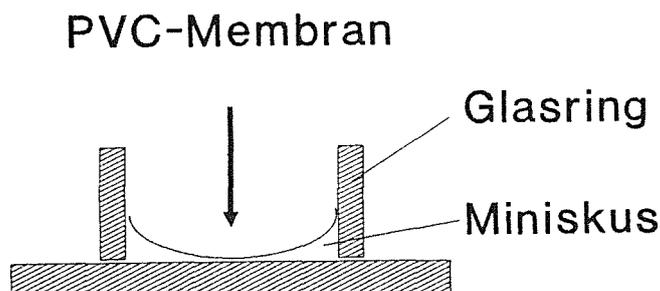
Als Matrix sollte Poly(vinylalkohol) (PVA) dienen. Das Polymer ist in Wasser löslich, weshalb sich Membranen herstellen lassen. Morin wurde über seine Hydroxylgruppen mit Cyanurchlorid an PVA kovalent gebunden (siehe Anhang A5). Doch die auf diese Weise hergestellten Membranen zeigten nicht den von Pal und Mitarbeitern beschriebenen Effekt der Fluoreszenzerhöhung nach Zugabe von Cadmium. Dies läßt sich auf die mögliche Blockierung der am Morin für die Komplexierung notwendigen Hydroxylgruppen in Position 3 bzw. 5 [86] durch Reaktion mit dem Kopplungsreagens Cyanurchlorid zurückführen. Dies weist darauf hin, wie wichtig es ist, daß sich die für die Komplexierung notwendigen und die für die Immobilisierung benötigten, funktionellen Gruppen deutlich unterscheiden.

### 5.2.1. VA-Epoxy

Im Falle des VA-Epoxy besteht zwar keine Möglichkeit Membranen zu gießen, da das Polymer in keinem geeigneten Lösungsmittel löslich ist (laut Herstellerangaben). Allerdings ist die Immobilisierung von Farbstoffen mit nucleophilen Gruppen wegen der hohen Reaktivität der Oxiranreste einfach und in einem Schritt durchführbar. Wie sich zeigt, ist die ausgearbeitete Technik für die Fixierung des Pulvers hinreichend gut geeignet, um diese Sensoren reproduzierbar herzustellen. Die relative Standardabweichung bei den mit TPPS als Indikator hergestellten Sensoren wurde anhand der Remission bei 419 nm (Soret-Bande) ermittelt. Sie betrug bei sechs Sensoren aus einer Charge 6,2 % ( $R_{\infty}'(419 \text{ nm}) = 0,054 \pm 0,033$ ). Der Streukoeffizient wurde gemäß Gleichung (4) und (5) aus experimentellen Daten berechnet zu  $s = 126 \text{ cm}^{-1}$ .

### 5.2.2. Poly(vinylchlorid)

Um die Anwendung von dünnen Membranen als sensitive Schichten zu testen, wurde PVC als Immobilisierungsmatrix verwendet. Die bei ionensensitiven Elektroden erprobte Technik der Membranherstellung aus einer Mischung der Membrankomponenten gelöst in THF hat sich auch im vorliegenden Fall bewährt. Die Dicke der nach Methode 1 (Glasring aufgesetzt auf Glasträger) hergestellten Membranen betrug 10-100  $\mu\text{m}$ . Der Vorteil dieser Methode ist die einfache Herstellung. Nachteilig ist die Extraktion eines Großteils des Farbstoffs in den sich ausbildenden Miniskus. Es kann keine homogene Verteilung des Farbstoffs in der sensitiven Schicht (Abbildung 30) erreicht werden, d.h. die Herstellung von Sensoren mit einer reproduzierbaren Farbstoffkonzentration im spektroskopisch beobachteten Bereich wird unmöglich. Deshalb wurde eine zweite Art der Sensorherstellung getestet.



**Abb. 30: PVC-Sensor nach Methode 1 hergestellt**

Wird ein PVC-Sensor durch Einpipettieren des Membran-Cocktails in einen Glasring hergestellt, so weist die fertige Membran durch Ausbildung eines Miniskus' unterschiedliche Dicken entlang ihres Durchmessers auf. An den Rändern ist dadurch mehr Farbstoff gebunden als in der Mitte. Diese inhomogene Verteilung verhindert eine reproduzierbare Herstellung der Sensoren.

Nach Methode 2 (rotierender Glasträger) sind sehr dünne Membranen herstellbar (Dicke:  $< 10 \mu\text{m}$ ). Außerdem kann durch eine standardisierte Vorgehensweise (PVC-Konzentration der THF-Lösung, Umdrehungsgeschwindigkeit des Glasträgers, einpipettierte Menge usw.) eine gute Reproduzierbarkeit bei der Sensorherstellung bewerkstelligt werden. Erreicht worden sind bei den vorliegenden Untersuchungen eine rel. Standardabweichung von 17,4 % (ermittelt anhand der Extinktion der Soret-Bande von 26 Sensoren mit TPPS als Farbstoff aus drei verschiedenen Ansätzen;  $E(421 \text{ nm}) = 0,414 \pm 0,072$ ).

Als Ergebnis dieser orientierenden Untersuchungen ist festzuhalten, daß für die gestellte Aufgabe VA-Epoxy und Poly(vinylchlorid) als Matrices in Frage kommen.

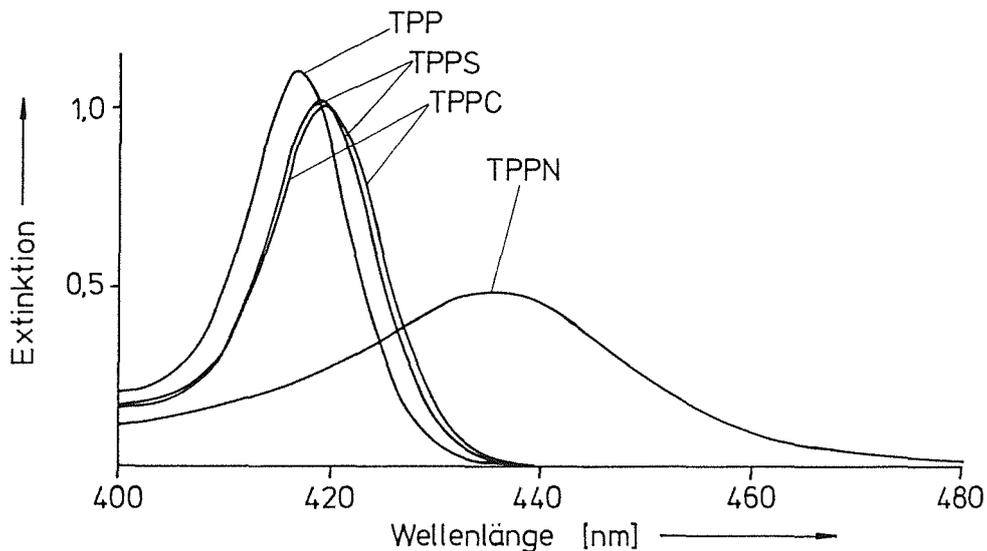
### 5.3. VA-Sensoren

Die Verwendung von VA-Epoxy als Matrix setzt einen Farbstoff voraus, der nucleophile Gruppen besitzt. Deshalb wurden für diese Untersuchungen die Porphyrinderivate mit Amino- (TPPN) und Carboxylgruppen (TPPC) verwendet. Durch eine einfache Modifizie-

rung der Matrix und Umsetzung des Sulfonsäuresalzes (TPPS) in das reaktive Sulfonsäurechlorid war es möglich, die Verwendbarkeit dieses Derivates mit der Matrix zu prüfen.

### 5.3.1. Messung in Lösung

Die spektralen und kinetischen Eigenschaften der eingesetzten Porphyrinderivate wurden zunächst in Lösung untersucht, um den Einfluß der Substituenten an den Phenylresten auf das Komplexierungsverhalten des Farbstoffs festzustellen, und um Hinweise zu erhalten, welches Derivat für eine Sensorherstellung am ehesten geeignet sei. Hinsichtlich einer einfachen Immobilisierung in einem Schritt wäre der Einsatz des TPPN oder TPPC aufgrund der hohen Reaktivität der Amino- bzw. Carboxylgruppe mit den Oxiranresten gegenüber dem TPPS zu bevorzugen. Das Sulfonsäurederivat und das VA-Epoxy-Pulver müssen vor der Umsetzung, wie erwähnt, modifiziert werden, was zusätzliche Arbeitsschritte bei der Sensorherstellung bedeutet.



**Abb. 31: Absorptionsspektren der TPP-Derivat gelöst in DMF**

Der Einfluß der Substituenten in para-Stellung des Phenylrings macht sich beim Absorptionsverhalten der TPP-Derivate in einer Rotverschiebung der Spektren bemerkbar verglichen zum unsubstituierten TPP. In der Abbildung ist nur der Bereich um die Soret-Bande berücksichtigt.

Der Einfluß der funktionellen Gruppen auf die Bandenlage der Absorptionsbanden ist in Abbildung 31 am Beispiel der Soret-Bande zu sehen.

In Tabelle 6 a) sind die Bandenlagen aufgelistet und mit Literaturwerten (Tabelle 6 b)) verglichen. Wie am Beispiel des TPPS zu sehen ist, unterscheiden sich die Literaturwerte (Lösungsmittel: Wasser) von den hier ermittelten (Lösungsmittel: DMF), was auf den Einfluß des Lösungsmittels zurückzuführen ist. Um Substituenteneffekte auf die Bandenlage des Absorptionsspektrums bei den verschiedenen Derivaten feststellen zu können, sollte deshalb ein einheitliches Lösungsmittel gewählt werden. Im vorliegenden Fall kam hierfür Dimethylformamid (DMF) in Frage, weil alle untersuchten Derivate darin löslich sind.

**Tabelle 6:**

**a) Absorptionsmaxima verschiedener TPP-Derivate (Lösungsmittel: DMF)**

	Wellenlänge in nm				
TPP	417,0	513,5	547,5	590,0	647,5
TPPN	435,0	527,0	575,5		667,0
TPPC	419,0	514,5	549,5	591,0	647,5
TPPS	419,0	515,5	550,0	591,0	647,0

**b) Literaturwerte (Die Angaben in Klammern beziehen sich auf das Lösungsmittel):**

	Wellenlänge in nm					Lit.
TPP (Benzol)	419,0	515,0	548,0	592,0	647,0	[87]
TPPN (DMF)	433,0	524	572,0		662,0	[88]
TPPC (Ethylen-glykol/H <sub>2</sub> O)	419,0	517,0	552,0	588,0	643,0	[89]
TPPS (H <sub>2</sub> O)	413,0	515,0	553,0	580,0	632,0	[90]

Wählt man das unsubstituierte Derivat (TPP) als Standard, so zeigt sich, daß die Aminogruppen eine deutliche Verschiebung der Banden ins Rote bewirkt. Im Falle von TPPC bzw. TPPS ist dieser Effekt nicht so stark ausgeprägt. Die Spektren von TPPC und TPPS sind vergleichbar bezüglich ihrer Bandenlage.

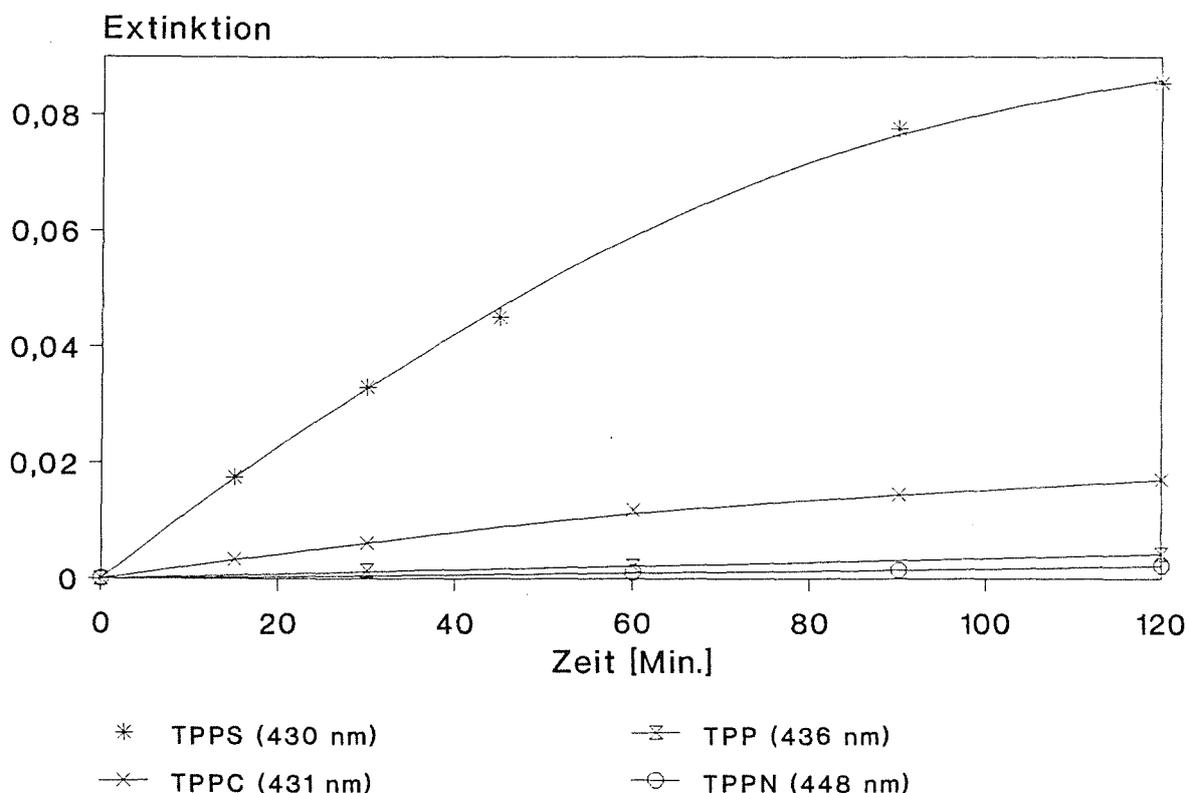
Welchen Einfluß die Substituenten auf die Lage der Absorptionsbande des Cd(II)-{P}-Komplexes haben, ist in Tabelle 7 gezeigt. Es sind die Maxima der Banden angegeben, sowie die Verschiebung der Wellenlänge des Maximums gegenüber der Soret-Bande und die Halbwertsbreite der Komplexbande.

**Tabelle 7: Halbwertsbreiten und Lage der Absorptionsbanden der Cadmiumkomplexe**

	TPP	TPPN	TPPC	TPPS
Wellenlänge [nm]	436	448	431	430
Verschiebung gegenüber Soret-Bande [nm]	19	13	12	11
Halbwertsbreite [nm]	12,5	33,0	13,5	13,0

Es stellt sich heraus, daß bei TPPN auch die Cadmiumbande stärker ins Rote verschoben ist als bei den anderen Derivaten. Außerdem sind die Farbstoff- und Komplexbande nicht so stark aufgetrennt wie z.B. im Falle des TPP, d.h. die Eigenabsorption des Farbstoffs interferiert bei der Cadmiumbestimmung aufgrund der großen Halbwertsbreiten der Banden .

Wie in Abbildung 32 zu sehen ist, unterscheiden sich die Derivate auch in der Komplexbildungsgeschwindigkeit. Sie nimmt in der Reihenfolge TPPN < TPP < TPPC << TPPS zu. Dies korreliert mit dem Einfluß des Substituenten am Phenylring auf die Basizität des Porphyrinmoleküls. Die Aminogruppen wirken elektronenziehend und erhöhen damit die Basizität.



**Abb. 32: Kinetik der Komplexierung von Cadmium bei den verschiedenen Derivaten gelöst in DMF**

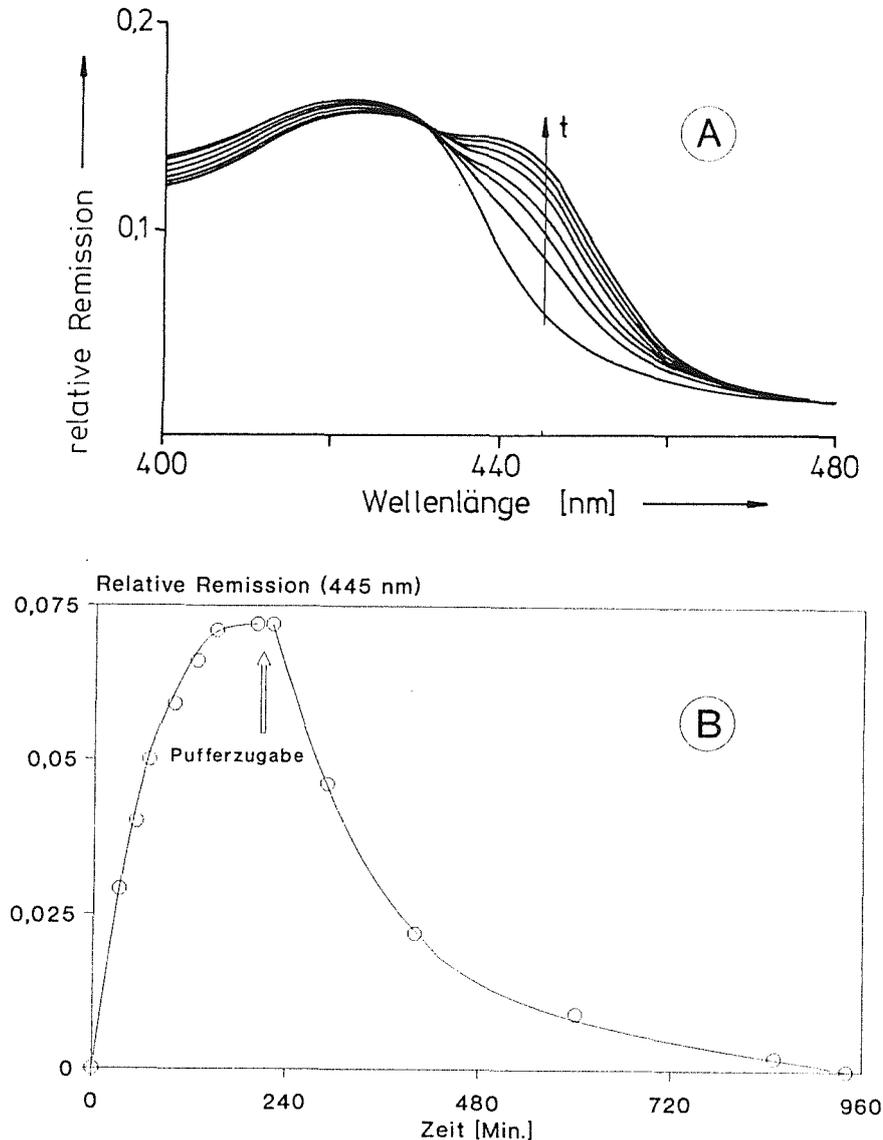
Die verschiedenen Tetraphenylporphyrinderivate weisen bei der Komplexierung von Cadmium unterschiedliche Kinetiken auf. Für diese Untersuchung wurden zu 3 ml einer Lösung des Farbstoffs in DMF 10  $\mu$ l einer wässrigen Cadmiumlösung gegeben ( $c_{Cd} = 3 \text{ mmol/l}$ ;  $c_{TPPS} = 0,1 \text{ mmol/l}$ ).

Die Carbonsäure- bzw. Sulfonsäurereste erhöhen die Elektronendichte im Phenylring und setzen damit die Basizität des Porphyrins herab. Wächst der elektronenanziehende Charakter von Substituenten, so vermindert sich gemäß Falk [18] die Inkorporationsgeschwindigkeit von Metallen in Porphyrinen. TPPS wurde als Derivat für die Sensorherstellung gewählt, da die - verglichen mit den anderen Derivaten schnellste Komplexierungszeit - die beste Ansprechzeit beim Sensor erwarten läßt.

### 5.3.2. Messung des immobilisierten Farbstoffs

Zunächst sei festgestellt, daß die Absorptionsspektren der Porphyrinderivate durch die Immobilisierung zu höheren Wellenlängen

hin verschoben werden. Dieser Effekt wurde auch bei anderen, in der Literatur beschriebenen Optroden beobachtet [91,92]. Nach Jones und Porter [93] nimmt die immobilisierte Spezies eine pla-



**Abb. 33: VA-Sensor mit TPPC als Indikator**

**A) Spektrale Veränderung nach Zugabe von Cadmium;**

**B) Kinetik der Hin- und Rückreaktion**

Wird ein VA-Sensor, bei dem TPPC als Reagensfarbstoff direkt an die Oxirangruppen gebunden wurde, mit einer Cadmiumlösung in Kontakt gebracht, so bildet sich bei 440 nm mit zunehmender Zeit 't' eine Absorptionsbande aus (A). Dieser Vorgang ist nach 2,5 Stunden abgeschlossen. Wird der Sensor dann wieder in Pufferlösung überführt, so bildet sich die Bande des Komplexes bei 440 nm wieder zurück (B). Der Sensor reagiert also reversibel auf Cadmium.

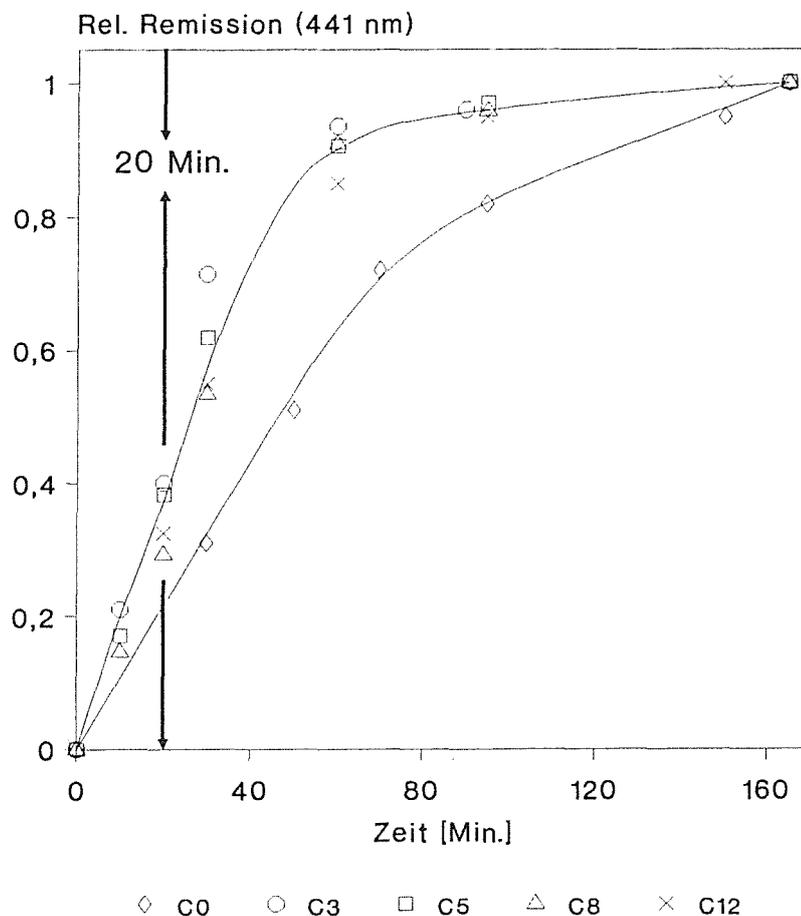
nare Struktur ein. Dies bedeutet im Falle der Porphyrine, daß sie sich im immobilisierten Zustand einer  $D_{4h}$ -Symmetrie annähern, was, wie in Abschnitt 3.2.1. ausgeführt, zu einer Rotverschiebung der Absorptionsbanden führt.

Um die wichtige Frage nach der Reversibilität der Komplexbildungsreaktion zu klären, wurden Sensoren mit TPPN und TPPC hergestellt, da in beiden Fällen zur Immobilisierung keine Zwischenschritte notwendig sind, und das VA-Epoxy-Pulver direkt mit der Farbstofflösung umgesetzt werden kann.

Es stellte sich heraus, daß Sensoren hergestellt mit TPPN und mit TPPC reversibel mit Cadmium reagierten (vgl. Abbildung 33), daß aber die Ansprechzeit ( $t_{95}$ -Zeit = die Zeit, nach der 95 % des Grenzwertes der Remission bzw. Extinktion erreicht sind) im Falle des TPPC 2,5 Stunden und im Falle des TPPN > 8 Stunden betrug. In Abbildung 33 A) sind die spektralen Veränderungen nach Zugabe von Cadmium zu sehen und in Abbildung 33 B) der zeitliche Verlauf der Hin- und Rückreaktion für einen VA-Sensor mit TPPC als Indikator.

Sensoren, die daraufhin mit TPPS hergestellt wurden, waren ebenfalls reversibel und hatten eine Ansprechzeit von 90 Minuten. Die Ergebnisse, die mit den immobilisierten Derivaten erhalten wurden, korrelieren gut mit denen, die sich mit den in DMF gelösten Derivaten ergaben. In Abbildung 33 B) fällt auf, daß die Abklingzeit, d.h. die Zeit, die das Signal nach Überführung des Sensors in Pufferlösung benötigt, um den Ausgangswert zu erreichen, um etwa einen Faktor 4 größer ist als die Ansprechzeit. Auch bei den in der Literatur beschriebenen Optroden [94-98] wurden Verzögerungen der Abklingzeit um einen Faktor 3-5 erwähnt. Ein Grund dafür ist, daß die Geschwindigkeit der Hinreaktion von der Geschwindigkeitskonstante der Reaktion und von den Ausgangskonzentrationen der Reaktanden abhängig ist, während bei der Rückreaktion die Geschwindigkeit lediglich durch die intrinsische Geschwindigkeitskonstante (Zerfallsgeschwindigkeit des Komplexes) determiniert wird.

Eine Erklärung für die erhöhten Ansprechzeiten des Farbstoffs im gebundenem Zustand gegenüber den in wässriger Lösung erhaltenen Werten wäre neben einer gehinderten Diffusion der Cadmiumionen durch die poröse Matrix, die Erniedrigung der Reaktivität aufgrund einer starren Anbindung des Moleküls oder einer zu starken Wechselwirkung mit der Matrix.



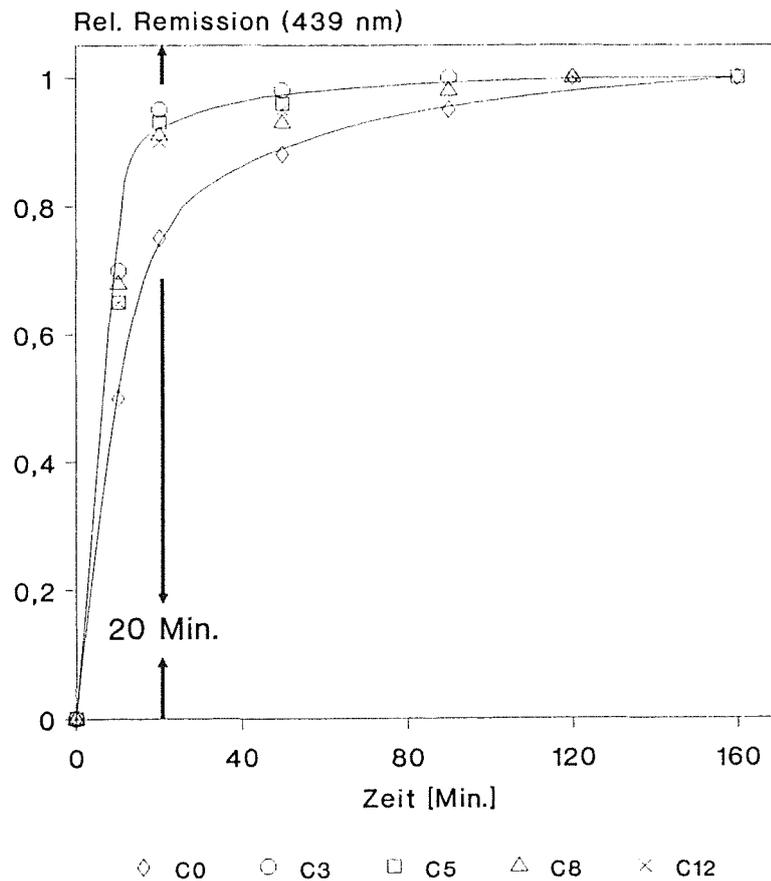
**Abb. 34: Kinetik der Komplexierung von VA-Sensoren mit an verschieden langen spacer-Molekülen immobilisiertem TPPC**

Um den Einfluß des Abstandes des Farbstoffmoleküls von der Matrixoberfläche auf die Kinetik der Komplexierung von Cadmiumionen zu überprüfen, wurde TPPC über verschieden lange spacer-Moleküle an VA-Epoxy gebunden. Als spacer-Moleküle wurden folgende endständige Diaminderivate verwendet:

"C<sub>0</sub>" = Ammoniak; "C<sub>3</sub>" = 1,3-Diaminopropan; "C<sub>5</sub>" = Bis(2-aminoethyl)ether; "C<sub>8</sub>" = 1,8-Diamino(3,6-Dioxa)octan; "C<sub>12</sub>" = 1,12-Diamino(4,9-Dioxa)dodecan. Als Kopplungsreagens diente in allen Fällen 1,2,3,4-Diepoxybutan.

Aufgetragen ist die relative Remission bezogen auf den erreichten Endwert. Die angegebenen 20 Minuten weisen auf die in Lösung benötigte Zeit für die Komplexbildung (vgl. Abb. 25) hin.

Es wurde daher untersucht, ob der Abstand des Farbstoffmoleküls von der Matrixoberfläche bzw. seine Beweglichkeit einen Einfluß auf die Kinetik der Komplexbildung haben. Um dies zu überprüfen, wurden TPPC und TPPS über verschieden lange spacer-Moleküle an das Polymer gebunden (TPPN wurde wegen seiner extrem langen Komplexbildungszeit nicht weiter verwendet). Die Ansprechzeiten dieser Sensoren sind in Abbildung 34 und 35 dargestellt, indem die relative Remission bezogen auf den Endwert gegen die Zeit aufgetragen ist.

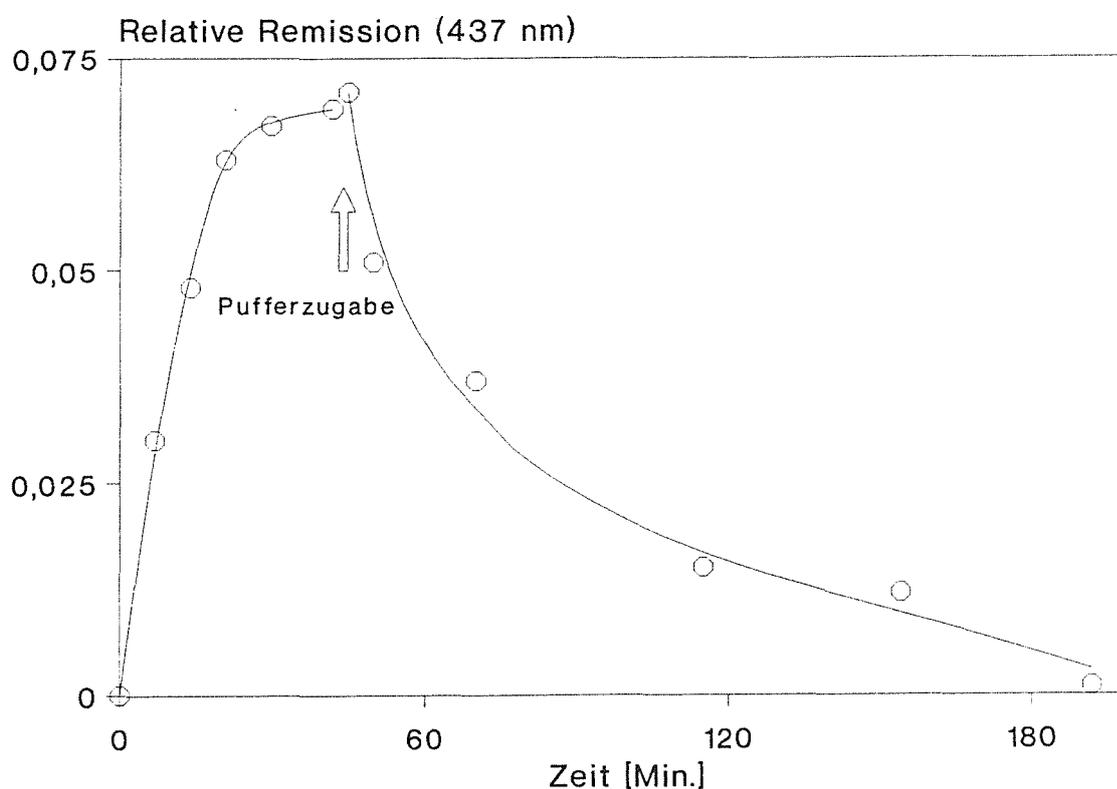


**Abb. 35: Kinetik der Komplexbildung von VA-Sensoren mit an verschieden langen spacer-Molekülen immobilisiertem TPPS**

Ebenso wie TPPC (vgl. Abb. 34) wurde auch TPPS über verschiedene spacer-Moleküle an VA-Epoxy gebunden. Es wurden die in Abb. 34 angegebenen Diaminoderivate verwendet, wobei der Einsatz des Dioxirans als Kopplungsreagens entfiel, da TPPS als Sulfonsäurechlorid zur Immobilisierung eingesetzt wurde. Auch hier sind die relativen Remissionen bezogen auf den Endwert des jeweiligen Sensors angegeben.

Wie sich zeigt, erhält man beim Übergang von direkt an die Matrix gebundenen Farbstoff zu einem über C3-Ketten gebundenen eine etwa 2-fach kürzere Ansprechzeit. Die Erweiterung der spacer-Kette von "C3" nach "C12" bringt bezüglich der Ansprechzeit keine weitere Verbesserung. Wie ein Vergleich zwischen TPPC- und TPPS-Sensoren zeigt, weisen erstere eine um einen Faktor 2-4 längere Ansprechzeit auf. Auch dies korreliert mit den in DMF-Lösung erhaltenen Daten.

Zur weiteren Charakterisierung wurden daraufhin TPPS-Sensoren eingesetzt, die über eine C3-Kette (1,3-Diaminopropan) an VA-Epoxy immobilisiert waren. In Abbildung 36 ist der zeitliche Verlauf der Hin- und Rückreaktion eines solchen Sensors dargestellt.

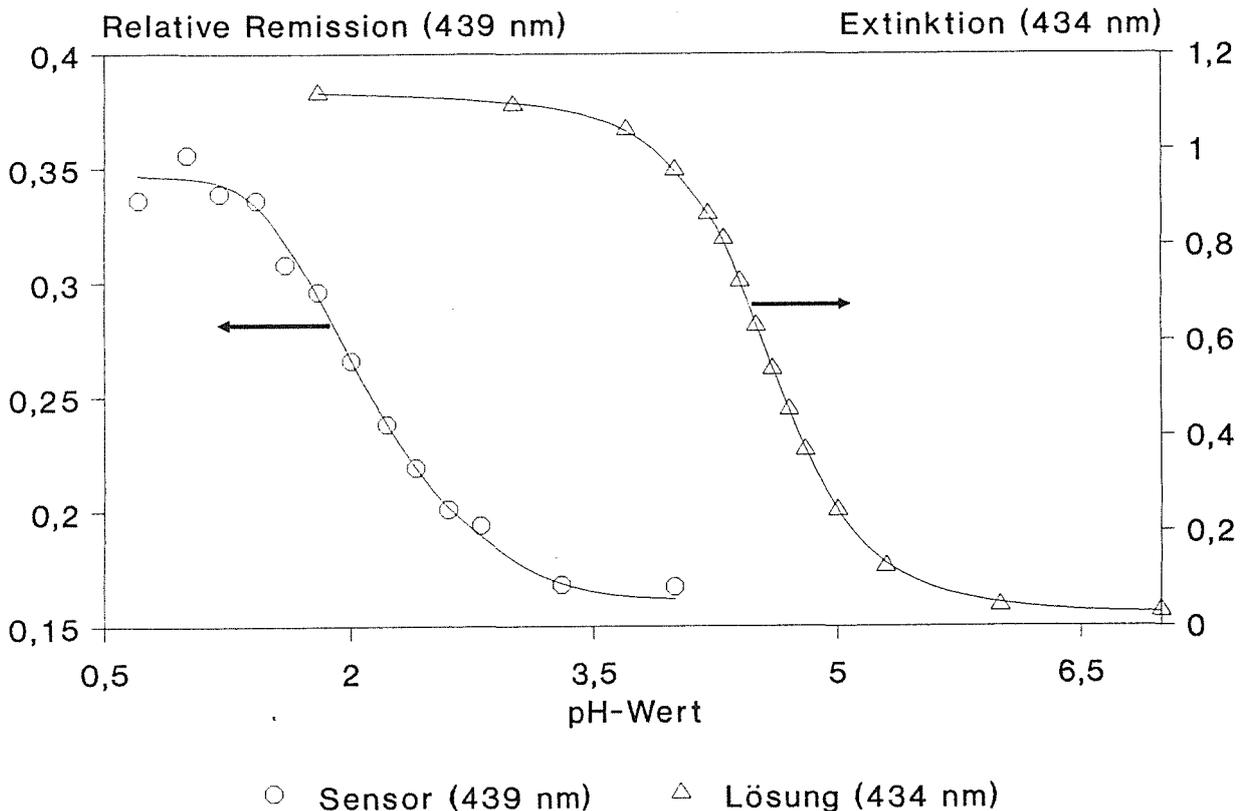


**Abb. 36: Hin- und Rückreaktion eines VA-Sensors (TPPS)**

Ein VA-Sensor mit TPPS als Reagensfarbstoff (angebunden über 1,3-Diaminopropan) bildet bei Zugabe von Cadmium eine Absorptionsbande bei 437 nm aus. Die relative Remission ändert sich nach 40 Minuten nicht mehr. Wird der Sensor dann mit reiner Pufferlösung (ohne Zusatz von Cadmium) in Kontakt gebracht, so geht die relative Remission bei 437 nm auf ihren Ausgangswert zurück. Auch dieser Sensor ist reversibel (vgl. Abb. 33 b).

Es ist festzustellen, daß durch die Anbindung des TPPS über eine spacer-Gruppe Ansprechzeiten erreicht werden, die dem angestrebten Ziel (= Komplexierungsdauer in Lösung) entsprechen bzw. es maximal um den Faktor zwei übersteigen.

Der Einfluß der chemischen Immobilisierung auf die Eigenschaften des TPPS wird bei einem Vergleich der pK-Werte des gelösten und gebundenen Farbstoffs deutlich. In Abbildung 37 sind die Extinktion bei 434 nm (für die Lösung) bzw. die relative Remission bei 439 nm (für den Sensor) gegen den pH-Wert aufgetragen worden.

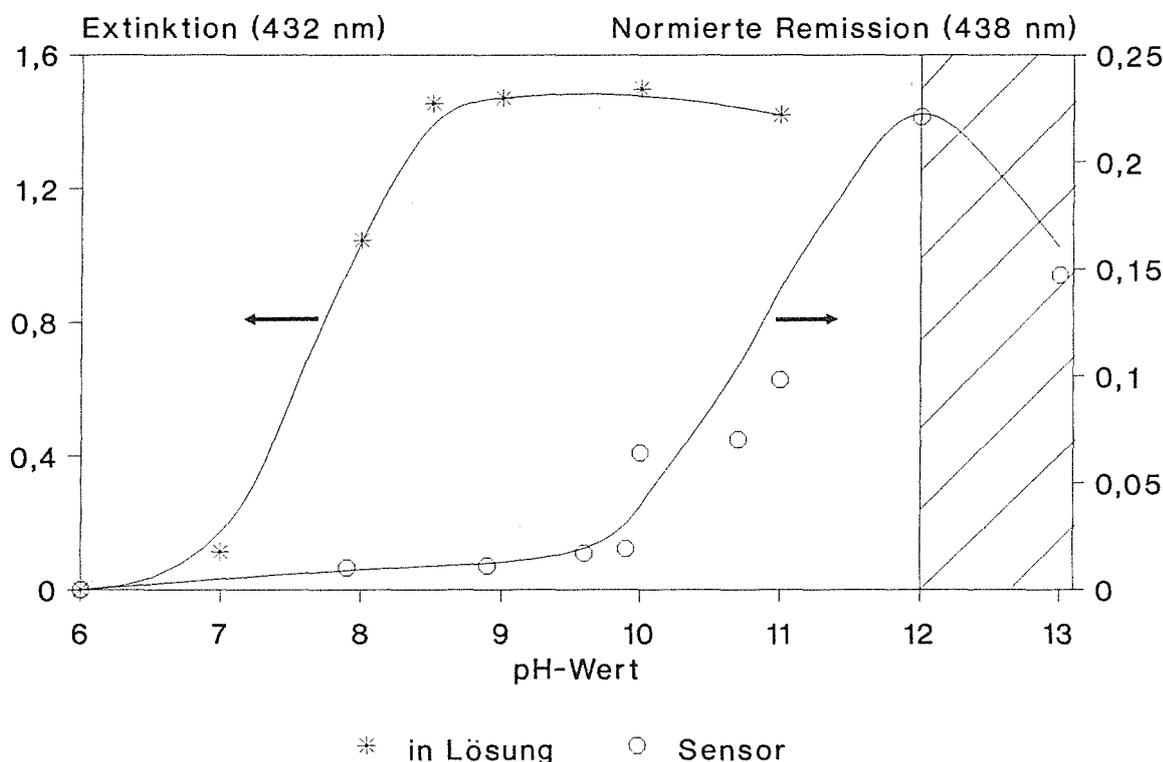


**Abb. 37: Bestimmung des pK-Werts für gelösten und auf VA-Epoxy immobilisiertes TPPS**

Durch die Immobilisierung von TPPS auf VA-Epoxy ändert sich das Säure-Base-Verhalten des Indikators. Der pK-Wert des gelösten Farbstoffs beträgt  $pK = 4,6$  und der des immobilisierten  $pK = 1,6$ . Die entsprechenden pH-Werte wurden mit dem Puffersystem Citronensäure/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ("Mc-Ilvaine"-Puffer) eingestellt. Die linke Ordinate gibt die relativen Remissionen des Sensors bei 439 nm wieder und die rechte die in Lösung gemessenen Extinktionen bei 434 nm.

Eine Auswertung der Diagramme nach der Tubbs-Ring-Methode [99] ergibt für den Farbstoff in wässriger Lösung einen  $pK$ -Wert von 4,6 und für den immobilisierten Farbstoff einen Wert von 1,6. Diese erhöhte Acidität im immobilisierten Zustand hat einen Einfluß auf das Komplexierungsverhalten des Farbstoffs. Saari und Seitz stellten bei ihrer  $Be^{2+}$ -Optrode [100] ebenfalls fest, daß sich durch die Immobilisierung des Liganden das Säure-Base-Verhalten verglichen zu dem in Lösung ändert. Weiterhin beobachteten sie, daß dadurch das pH-Optimum für die Komplexierung beim immobilisierten Liganden verschoben ist.

Wie sich das pH-Optimum für die Cadmiumkomplexierung durch die chemische Anbindung verändert, ist in Abbildung 38 dargestellt.



**Abb. 38:** *pH-Abhängigkeit der Cadmium-Komplexierung des gelösten und auf VA-Epoxy immobilisierten TPPS*

Der optimale pH-Bereich für die Cadmium-Komplexierung wird durch die Immobilisierung des TPPS im Vergleich zum gelösten Farbstoff in den alkalischen Bereich verschoben. Eine genaue Angabe des optimalen Bereiches ist nicht möglich, da im unterlegten Teil des Diagramms ( $pH > 12$ ) ein ansteigender Austrag des Farbstoffs aufgrund der alkalischen Verseifung der Bindung festgestellt wurde. An der linken Ordinate sind die in Lösung gemessenen Extinktionen aufgetragen und an der rechten die relativen Remissionen bezogen auf den Farbstoffgehalt des Sensors.

Das pH-Optimum für die Cd-Komplexierung ist gegenüber den Verhältnissen in Lösung deutlich in den alkalischen Bereich verschoben. Cd(II)-Ionen bevorzugen wegen ihrer elektronischen Struktur ( $d^{10}$ -Konfiguration) eine tetraedrische Koordinationssphäre. Nach Falk [18] sitzen solche Ionen in  $M^{++}$ -(P)-Komplexen deshalb etwas außerhalb der quadratisch-planaren Koordinationsebene des Porphyrins. Daraus resultiert eine schwächere Bindung verglichen mit anderen  $M^{++}$ -(P)-Komplexen. Erhöht sich nach der Immobilisierung die Planarität des Porphyrins (beobachtete Rot-shift des Absorptionsspektrums), so wird dieser Effekt noch verstärkt, und es genügen geringere Protonenkonzentrationen, um das Metallion aus dem Liganden zu verdrängen. Daraus resultiert eine Verschiebung der pH-Abhängigkeit der Komplexierung in den alkalischen Bereich. Im unterlegten Teil der Abbildung 38 ( $\text{pH} > 12$ ) wurde in zunehmendem Maße ein Farbstoffaustrag von der Matrix beobachtet. Dies ist auf eine alkalische Verseifung und damit Zerstörung der chemischen Bindung zurückzuführen. Für die weiteren Messungen wurde deshalb ein pH-Wert von 11,5 eingestellt, da hier noch kein merklicher Austrag des Farbstoffs festzustellen war.

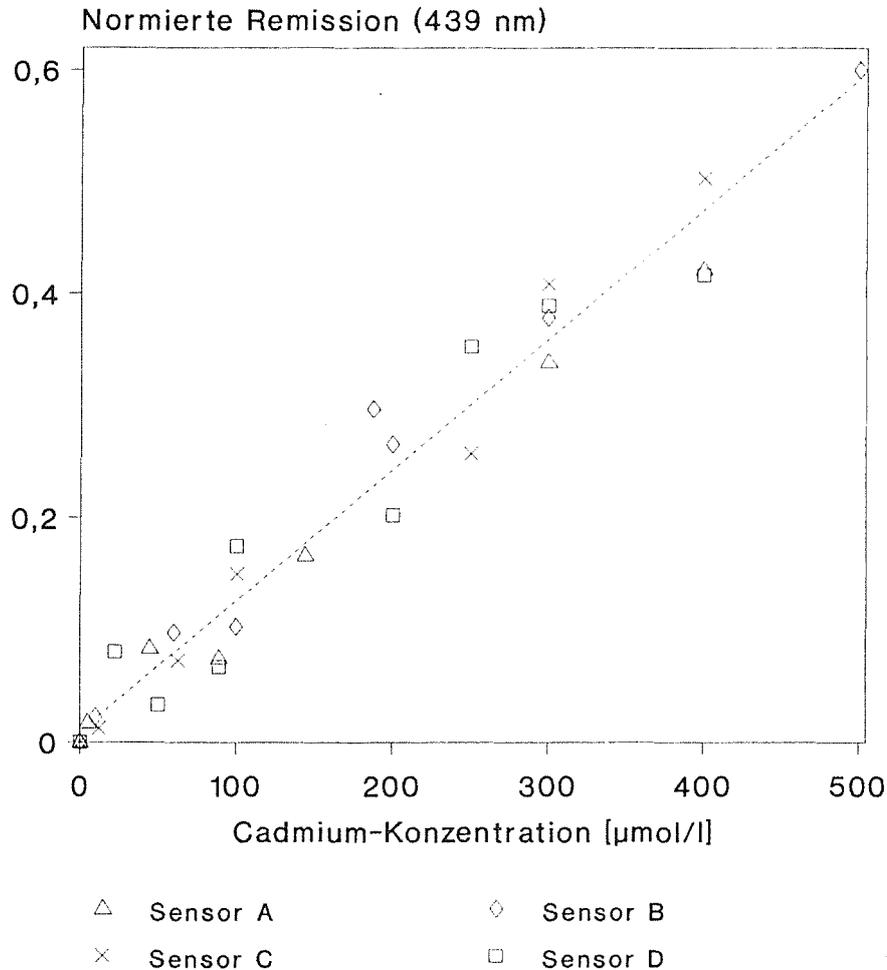
Anhand von vier aus einer Charge hergestellten VA-Sensoren wurde die Nachweisempfindlichkeit auf Cadmium untersucht. In Abbildung 39 sind die Ergebnisse dargestellt. Dabei wurde die relative Remission auf die unterschiedlichen Farbstoffgehalte der einzelnen Sensoren (ermittelt anhand der Soret-Bande) normiert (vgl. Gleichung (15), Abschnitt 3.3.5.). Die abgebildete Eichgerade wurde über eine Regressionsanalyse anhand aller 31 Meßwerte ermittelt. Die errechnete Geradengleichung lautet:

$$(25) \quad F(R_{\infty})_{\text{norm}} = 1.164,7 \cdot c + 0,009 \quad (r = 0,9807)$$

Die Gleichungen für die Regressionsgeraden der einzelnen Sensoren sind im Anhang A6 angegeben.

Die mittlere Abweichung der normierten Remissionen von Konzentrationen in der Nähe der Nachweisgrenze ( $s_{x.y} = 0,01$ ) wurden für

deren Berechnung herangezogen (vgl. Abschnitt 4.5.). Es ergibt sich für die Nachweisgrenze eine Cadmiumkonzentration von  $c_{\text{Grenz}} = 1,3 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ .



**Abb. 39: Eichwerte verschiedener VA-Sensoren**

Die Eichwerte wurden anhand von vier VA-Sensoren ermittelt. Aufgetragen ist die auf den Farbstoffgehalt des Sensors normierte relative Remission gegen die eingesetzte Cadmiumkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$ . Die eingezeichnete Gerade wurde durch eine Regressionsanalyse aller Eichwerte berechnet. Die daraus ermittelte Nachweisgrenze beträgt  $c_{\text{Grenz}} = 13 \mu\text{mol/l}$ .

Die Nachweisempfindlichkeit des auf die beschriebene Weise immobilisierten TPPS ist damit gegenüber der des gelösten Farbstoffs ( $c_{\text{Grenz}} = 6,3 \cdot 10^{-8} \text{ mol/l}$ ) um einen Faktor 220 vermindert. Ein Grund dafür ist die hohe lokale Konzentration des Farbstoffs auf der Matrix. Eine Abschätzung dieser Konzentration ist mit Hilfe

folgender Gleichung, die durch Einsetzen von Gleichung (3) in (6) und Umformen erhalten wurde, möglich.

$$(26) \quad c_{\text{TPPS}} = \frac{(1-R_{\infty}')^2 \cdot s}{R_{\infty}' \cdot \epsilon}$$

$c_{\text{TPPS}}$  = Menge an immobilisiertem Farbstoff  
 $R_{\infty}'$  = relative Remission  
 $s$  = Streukoeffizient  
 $\epsilon$  = molarer Extinktionskoeffizient

Für eine mittlere relative Remission von 0,054 (vgl. Abschnitt 5.2.1.) bei der Soret-Bande, einem molaren Extinktionskoeffizienten von  $\epsilon = 5 \cdot 10^5 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  und dem experimentell ermitteltem Streukoeffizient  $s = 126 \text{ cm}^{-1}$  (vgl. Abschnitt 5.2.1.) ergibt sich eine lokale Konzentration, die  $2,1 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$  gelöstem Farbstoff entspräche. Das bedeutet die Farbstoffkonzentration auf der Matrix ist um den Faktor 190 größer als bei den Messungen in wässriger Lösung ( $c_{\text{TPPS}} = 1,13 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ ). Wie in Abschnitt 4.5. ausgeführt, kann - terminiert durch die apparatespezifische Auflösung - Cadmium bis zu einem Faktor  $\delta = 0,005$  der Konzentration des Farbstoffs nachgewiesen werden. Bei der berechneten, lokalen Konzentration auf der Matrix von  $c_{\text{TPPS}} = 2,1 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$  läßt sich die Nachweisgrenze in Anlehnung an Gleichung (24) (Abschnitt 4.5.), wie folgt abschätzen:

$$(24) \quad c_{\text{Grenz}} = \delta \cdot \frac{F(R_{\infty}')_{\text{Soret}} \cdot s}{\epsilon}$$

$\delta$  = apparatespezifischer Faktor

$$(27) \quad c_{\text{Grenz}} = \delta \cdot c_{\text{TPPS}}$$

Die mit Gleichung (27) abgeschätzte Nachweisgrenze von  $c_{\text{Grenz}} \geq 1,05 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$  korreliert sehr gut mit dem aus den Meßdaten errechneten Wert.

Die Gültigkeit der in Lösung ermittelten Toleranzgrenzen für andere Ionen in der Probelösung wurde exemplarisch an einigen stark interferierenden Ionen überprüft. In Tabelle 8 sind die Änderungen der relativen Remission bei Anwesenheit anderer Ionen angegeben.

**Tabelle 8: Interferenz einiger Schwermetallionen**

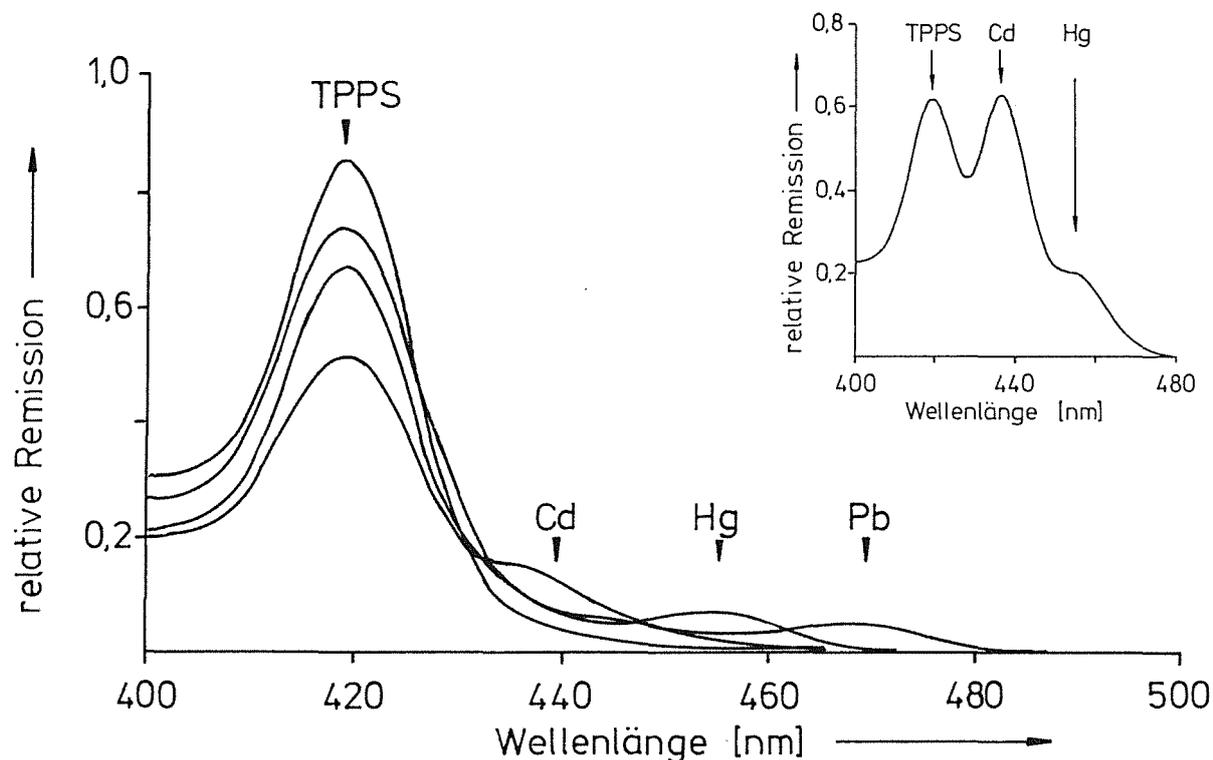
In der letzten Spalte sind die prozentualen Abweichungen der relativen Remissionen bei 438 nm angegeben bezogen auf die relative Remission, die ohne interferierendes Ion nur mit Cadmium ermittelt wurde.

interferieren- des Ion (M)	Verhältnis [Cd]/[M]	Abweichung in Prozent
Hg(II)	0,1	+ 86,0
Pb(II)	1,0	+ 6,7
Co(II)	1,0	± 0,0
Zn(II)	2,0	+ 5,3
Cr(III)	2,0	- 98,0
Fe(III)	5,0	- 28,0
Cu(II)	20,0	- 38,0

Bei diesem Experiment wurden die Verhältnisse eingestellt, die eine  $\leq 5$  %-ige Änderung der Extinktion in Lösung ergeben hatten. Die Ergebnisse zeigen, daß sich das Verhalten des immobilisierten Farbstoffs anderen Ionen in der Probenlösung gegenüber ändert im Vergleich zum Farbstoff in Lösung. Mögliche Erklärungen hierfür wären eine Veränderung der molaren Extinktionskoeffizienten und/oder geänderte Bindungskonstanten der verschiedenen Komplexe.

Die charakteristischen spektralen Unterschiede der verschiedenen  $M^{++}\text{-}\{P\}$ -Komplexe bleiben auch im immobilisierten Zustand erhalten, wie in Abbildung 40 zu sehen ist. Der Einschub in Abbildung 40 zeigt ein Spektrum eines Sensors, der in Kontakt mit einer Lösung von Cadmium- und Quecksilber-Ionen war. Der spektrale Unterschied beider Spezies ist deutlich zu erkennen.

In Tabelle 9 sind die Maxima der Farbstoff- und Komplex-Banden, sowie die Verschiebung der Banden für den gelösten und den immobilisierten Farbstoff aufgelistet.



**Abb. 40: Hg-, Pb-, Cd-Spektren von VA-Sensoren**

Auch das auf VA-Epoxy immobilisierte TPPS zeigt mit verschiedenen Metallionen unterschiedliche Absorptionsspektren. Im Einschub ist zu sehen, daß gleichzeitig Cd(II)- und Hg(II)-Ionen in der Probelösung mit diesem Sensor bestimmt werden können.

**Tabelle 9: Lage der Absorptionsbanden von TPPS und verschiedenen  $M^{2+}$ -TPPS-Komplexen**

Der Vergleich der Lage der Absorptionsbanden von gelöstem und immobilisiertem TPPS bzw. dessen Metallkomplexen zeigt, daß die Selektivität des Farbstoffes durch die Immobilisierung nicht beeinträchtigt wird.

	Soret-	Cd-	Hg-	Pb-Bande
Lösung [nm]	413	433	443	464
VA-Epoxy [nm]	419	438	455	470
Verschiebung [nm]	+ 6	+ 5	+12	+ 6

Die Langzeitstabilität wurde bei drei Sensoren überprüft. Nach sieben Tagen in der Pufferlösung verminderte sich die relative Remission der Soret-Bande im Durchschnitt um  $7,1 \pm 0,93$  %.

Als Ergebnis kann man zusammenfassen, daß ein optischer Cadmiumsensor hergestellt werden kann durch chemisches Immobilisieren eines Porphyrinfarbstoffs mit nucleophilen Gruppen an eine Matrix mit Oxiranringen als reaktive Ankergruppen. Die Immobilisierung ist in zwei Reaktionsstufen mit vertretbarem Aufwand durchführbar. Die Cadmiumkomplexierung ist reversibel. Wird das Farbstoffmolekül über eine spacer-Kette ( $\geq C_3$ -Kette; 1,3-Diaminopropan) an die Matrix angebunden, erhält man eine Ansprechzeit des Sensors (bei Zugabe von Cadmium), die der in Lösung bestimmten Komplexierungszeit (20 Minuten) entspricht bzw. maximal um einen Faktor zwei erhöht ist. Das pH-Optimum der Komplexierung ist in den alkalischen Bereich verschoben. Die Nachweisgrenze des Sensors ( $c_{\text{Grenz}} = 13 \mu\text{mol/l}$ ) ist aufgrund der hohen Konzentration des Farbstoffs auf der Matrix ( $c_{\text{TPPS}} = 2,1 \text{ mmol/l}$ ) um zwei Größenordnungen vermindert verglichen mit der in Lösung ermittelten Grenzkonzentration für Cadmium. Die Selektivität des Nachweises wird durch die Immobilisierung verändert. Die unterschiedlichen Absorptionsspektren verschiedener Metall-TPPS-Komplexe jedoch sind auch im immobilisierten Zustand meßbar.

#### 5.4. PVC-Sensoren

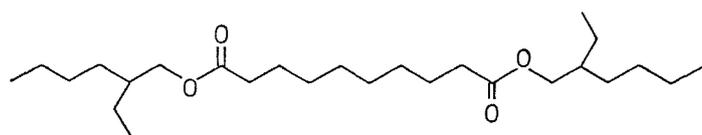
Um die Eigenschaften einer Matrix, mit der eine Membran hergestellt werden kann, zu untersuchen, wurde PVC als Polymer gewählt. Solch eine sensitive Schicht müßte nach dem Simon'schen Prinzip aufgebaut sein. Wie in Abschnitt 3.3.7. beschrieben, müssen co-Ionophore eingesetzt werden, um die positive Ladung, die durch die Komplexierung von Cadmiumionen in die Membran überführt wird, abzubauen. Hierzu kämen Kationenionophore (counter-Transport), wie Valinomycin ( $K^+$ -Ionophor), Nonactin ( $NH_4^+$ -Ionophor)

oder Tridodecylamin (TDA;  $H^+$ -Ionophor) in Frage. Tridodecylmethylammonium-Chlorid (TDMA-Cl; Anionen-Ionophor) könnte ebenfalls eingesetzt werden, da es die positive Ladung durch die Überführung von Anionen in die Membran kompensieren könnte (co-Transport).

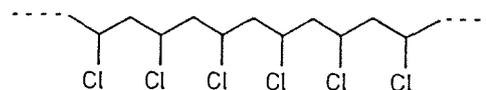
#### 5.4.1. Simulierende Messungen in Lösung

Zunächst sollte die Frage untersucht werden, ob die für eine einsetzbare Membran notwendigen Substanzen, wie Weichmacher, Ionophor, lipophile Anionen usw. einen Einfluß auf das Komplexierungsverhalten der eingesetzten Porphyrinderivate haben. Dazu wurde in einem ersten Ansatz die jeweilige Komponente in THF mit dem entsprechenden Porphyrinderivat (eingesetzt wurden als sog. "Chromoionophore" das hydrophobe TPP und das hydrophile TPPS) gemischt und anschließend wässrige Cadmiumlösung zugesetzt. Diese Versuche schlugen fehl, da sich herausstellte, daß die Spektren von TPPS gelöst in THF abhängig vom Wasseranteil in der Lösung sind. Aus diesem Grund ließen sich die Ergebnisse nicht mit denen, die bei der Verwendung von TPP als Chromoionophor erhalten wurden, vergleichen.

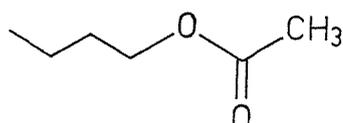
Deshalb wurde in einem zweiten Ansatz versucht, die chemischen Verhältnisse in der PVC-Membran mithilfe eines Lösungsmittelgemisches zu simulieren. Die hydrophoben PVC-Moleküle wurden dabei von 1,2-Dichlorethan repräsentiert. n-Butylacetat trat an die Stelle des verwendeten Plastisizers Bis(2-ethylhexyl)sebacat (DOS). In Abbildung 41 sind die Verbindungen dargestellt. Die Lösungsmittel wurden entsprechend dem für die Membranherstellung üblichen Verhältnis von Weichmacher zu PVC gemischt, d.h. 2 Teile n-Butylacetat auf 1 Teil 1,2-Dichlorethan. Als Indikator wurde das wasserunlösliche TPP verwendet. Die untersuchten Substanzen wurden in den für ionensensitiven Elektroden üblichen Konzentrationen eingesetzt, d.h. das lipophile Anion Kalium-Tetrakis(p-Chlorphenyl)Borat (KTpClPB) 2 Gew% und die Ionophore 1 Gew%.



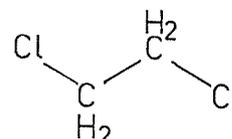
Bis(2-ethyl-hexyl)-sebacat (DOS)



Polyvinylchlorid (PVC)



n-Butylacetat



1,2-Dichlorethan

**Abb. 41: Lösungsmittel für die Simulation von  
PVC-Membranen**

Um den Einfluß der verschiedenen Membrankomponenten (PVC, Weichmacher, Ionophore, Hilfsstoffe) auf die Komplexierung von Cadmiumionen durch TPP zu untersuchen, wurde ein Lösungsmittelgemisch aus 1,2-Dichlorethan (anstelle von PVC) und n-Butylacetat (anstelle des Weichmachers) verwendet, um die chemische Umgebung in der PVC-Membran zu simulieren.

Den Lösungen wurde ein Aliquot wässrige Cadmiumlösung zugesetzt. Um den Einfluß dieser Ionophore und anderer Membrankomponenten auf die Cadmiumkomplexierung bewerten zu können, wurden die auf die Extinktion der Soret-Bande normierten Extinktionen bei 430 nm verglichen mit den Werten, die ohne einen Zusatz von anderen Substanzen in diesem Medium erhalten wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 zusammengefaßt.

Dieser Test zeigt, daß KTpClPB und TDA die Komplexierung von Cadmium offensichtlich nicht stören, da die Cd-TPPS-Banden vergleichbar mit der, die ohne Zusätze erhalten wurde, sind. Die die Cadmium-Komplexierung störenden Effekte von Valinomycin und Nonactin korrelieren mit Beobachtungen früherer Versuche, bei denen versucht wurde die Selektivität von fluorimetrischen Sensorschichten dadurch zu erhöhen, daß eine PVC-Membran mit einem

Cadmium-selektiven Ionophor als eine Art "Cadmium-Filter" eingesetzt werden sollte.

**Tabelle 10: Einfluß von PVC-Membran­komponenten auf die Cadmiumkomplexierung**

Membran- kompo- nente	Valinomycin (K <sup>+</sup> -Ionophor)	Nonactin (NH <sub>4</sub> -Iono- phor)	KTpClPB lipophi- les Anion	TDA H <sup>+</sup> -Iono- phor	ohne Zu- sätze
Normierte* Extinktion (430 nm)	0,3	0,33	0,6	0,51	0,52

\*Die angegebenen Extinktionen wurden auf die eingesetzte Menge an Farbstoff (ermittelt anhand der Extinktion der Soret-Bande) normiert.

Bei diesen Untersuchungen wurde mit Valinomycin oder Nonactin als co-Ionophore gearbeitet und kein Transfer von Cadmiumionen durch die PVC-Membran beobachtet.

#### 5.4.2. Messung der verschiedenen PVC-Sensoren

##### 5.4.2.1. Sensoren mit counter-Transport

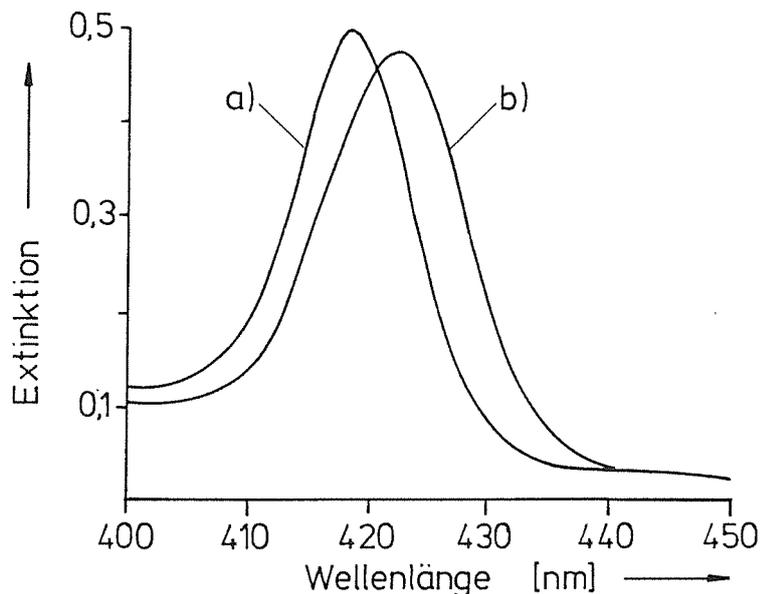
Aufgrund der Ergebnisse der simulierenden Messungen in Lösung wurde für den counter-Transport das System TPP (als Cadmium-Chromoionophor) und TDA (Protonenionophor) gewählt. Zunächst stellte sich heraus, daß durch einfaches Zusammenfügen der Komponenten noch keine Cadmium-sensitive Membran entsteht. Eine mögliche Erklärung wäre, daß der Ladungsausgleich durch den Gegen­transport von Protonen nur erfolgt, wenn Tridodecylamin (TDA) in einer Form eingesetzt wird, in der bereits Protonen assoziiert sind.

Deshalb wurde TDA in einem zweiten Versuch durch Extraktion mit Salzsäure bzw. durch den Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure

zur THF-Lösung protoniert und in der protonierten Form zur Membranherstellung verwendet. Auch dieser Ansatz mißlang.

Erst der Einsatz von TPP, in welches zuvor Cadmium inkorporiert wurde, führte zum Erfolg. Das Metalloporphyrin konnte demetalliert werden, indem die Membran nach ihrer Fertigstellung in einer Pufferlösung mit einem  $\text{pH} \leq 5$  konditioniert wurde. Durch den Transport von Cadmiumionen aus der Membran wird ein elektrisches Feld aufgebaut, das den Transport von Protonen in die Membran begünstigt. So wurde während der Demetallierung offensichtlich TDA im Gegenzug protoniert, denn mit derart konditionierten Membranen war Cadmium nachweisbar. Die Komplexierung von Cadmium erfolgt reversibel; allerdings liegt die Ansprechzeit des Sensors bei  $t \gg 8 \text{ h}$ !

Die Standzeit der Sensoren beträgt  $\geq 12$  Tage. Innerhalb von 12 Tagen nimmt die Extinktion der Soret-Bande um 5% ab.



**Abb. 42: Soret-Bande eines PVC-Sensors mit TPP als Chromoionophor und TDA als co-Ionophor zu verschiedenen Zeiten**

Das Absorptionsspektrum - exemplarisch gezeigt anhand der Soret-Bande - eines frisch bereiteten Sensors mit TPP als Chromoionophor (a) unterscheidet sich von dem desselben Sensors nach einer Meßserie von 12 Tagen (b) durch eine Rotverschiebung und Verbreiterung der Bande.

Die Soret-Bande verschiebt sich außerdem um 4 nm ins Rote und die Halbwertsbreite erhöht sich um 3 nm (Abbildung 42).

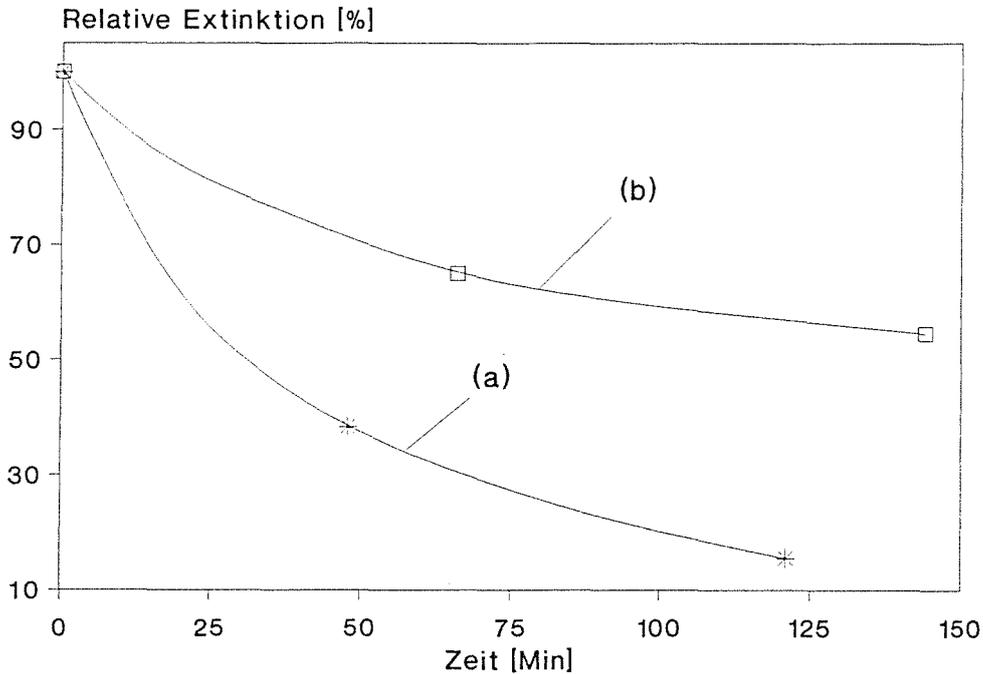
Eine Erklärung für die erwähnte sehr lange Ansprechzeit ist u.a., daß TPP ein hydrophober Ligand ist. Aufgrund seiner Struktur wird das hydrophile Komplexbildungszentrum durch die hydrophoben, senkrecht zum Porphyrinring ausgerichteten Phenylreste abgeschirmt. Da für die Komplexbildung, wie in Abschnitt 3.2.2. näher ausgeführt wurde, ein Eintauchen des Metallions in den Porphyrinkern erforderlich ist, muß eine Wechselwirkung des Liganden mit der wässrigen Phase möglich sein. Diese wird aber durch die hydrophobe Abschirmung der Phenylreste behindert.

Wie Yoshida und Hayano [101] im Falle von Kalium-selektiven PVC-Membranen festgestellt haben, ist die Geschwindigkeit der Ionenaufnahme in die Membran und der Transport stark von der Extrahierbarkeit der Metallionen abhängig. Desweiteren ist die Aufnahme der Ionen der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Als Ergebnis ihrer Untersuchungen führen sie aus, daß Liganden die stabilere Komplexe bilden und weniger hydrophob sind als Carrier zu bevorzugen seien. Aus diesem Grund und wegen der für die praktische Durchführung ungünstigen Ansprechzeit wurden Versuche mit einem hydrophilen Carrier durchgeführt.

#### 5.4.2.2. Sensoren mit co-Transport

Weitere Untersuchungen an PVC-Membranen wurden mit TPPS als hydrophilen Liganden durchgeführt. Dabei wurde TPPS (als Cadmium-Chromoionophor) durch Tridodecylmethylammonium-Chlorid (TDMA-Cl) aufgrund einer Ionenpaarbildung mit den negativ geladenen Sulfonsäureresten des Farbstoffs in der Membran gehalten. TDMA-Cl diente gleichzeitig als co-Ionophor zum Transport von Anionen.

Da TPPS hydrophil ist, wird der Farbstoff aus der hydrophoben Membran ausgetragen. Dieser Prozeß kann verlangsamt werden, wenn genügend positive Ankergruppen in der Membran zur Verfügung stehen. Wie in Abbildung 43 zu sehen ist, hängt die Geschwindigkeit des Farbstoffaustrages umgekehrt proportional von der Menge an TDMA-Cl in der Membran ab.



**Abb. 43: Austrag von TPPS aus PVC-Sensoren mit TPPS als Chromoionophor und TDMA-Cl als co-Ionophor**

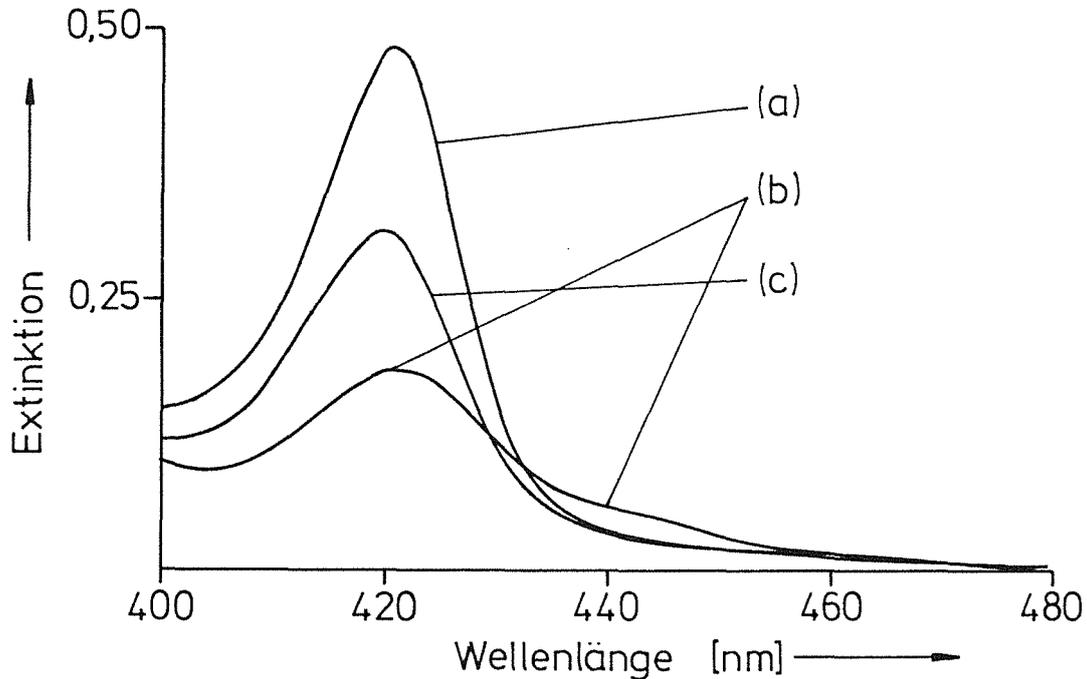
Aufgrund seiner guten Wasserlöslichkeit wird TPPS aus der hydrophoben PVC-Membran ausgetragen. Im Schaubild sind die zeitlichen Verläufe der Extinktion bezogen auf den Anfangswert für zwei verschiedene Verhältnisse von Chromo- (TPPS) zu co-Ionophor (TDMA-Cl) dargestellt.

a) 1:4 TPPS/TDMA-Cl; b) 1:8 TPPS/TDMA-Cl.

Wünschenswert wäre aufgrund dieses Verhaltens eine hohe TDMA-Cl-Konzentration. Eine Erhöhung der co-Ionophor-Konzentration verschlechtert jedoch die Nachweisempfindlichkeit der Membran erheblich. Da TDMA-Cl, wie in der Literatur beschrieben [102], auch als Extraktionsmittel eingesetzt werden kann, können Cadmiumionen durch Ionenpaarbildung mit TDMA-Cl gebunden werden. Damit stehen sie zur Detektion durch TPPS nicht mehr zur Verfügung. Aus diesem

Grund wurde TDMA-Cl äquimolar in bezug auf die Sulfonsäuregruppen bei TPPS eingesetzt.

Der Nachweis von Cadmium mit Hilfe dieser Sensoren erfolgt innerhalb von 20 Minuten und ist damit so schnell wie in wässriger Lösung. Außerdem ist die Reaktion auch bei diesen Membranen reversibel, wie in Abbildung 44 anhand der Spektren zu sehen ist.



**Abb. 44: Absorptionsspektren eines PVC-Sensors mit TPPS als Chromoionophor und TDMA-Cl als co-Ionophor**

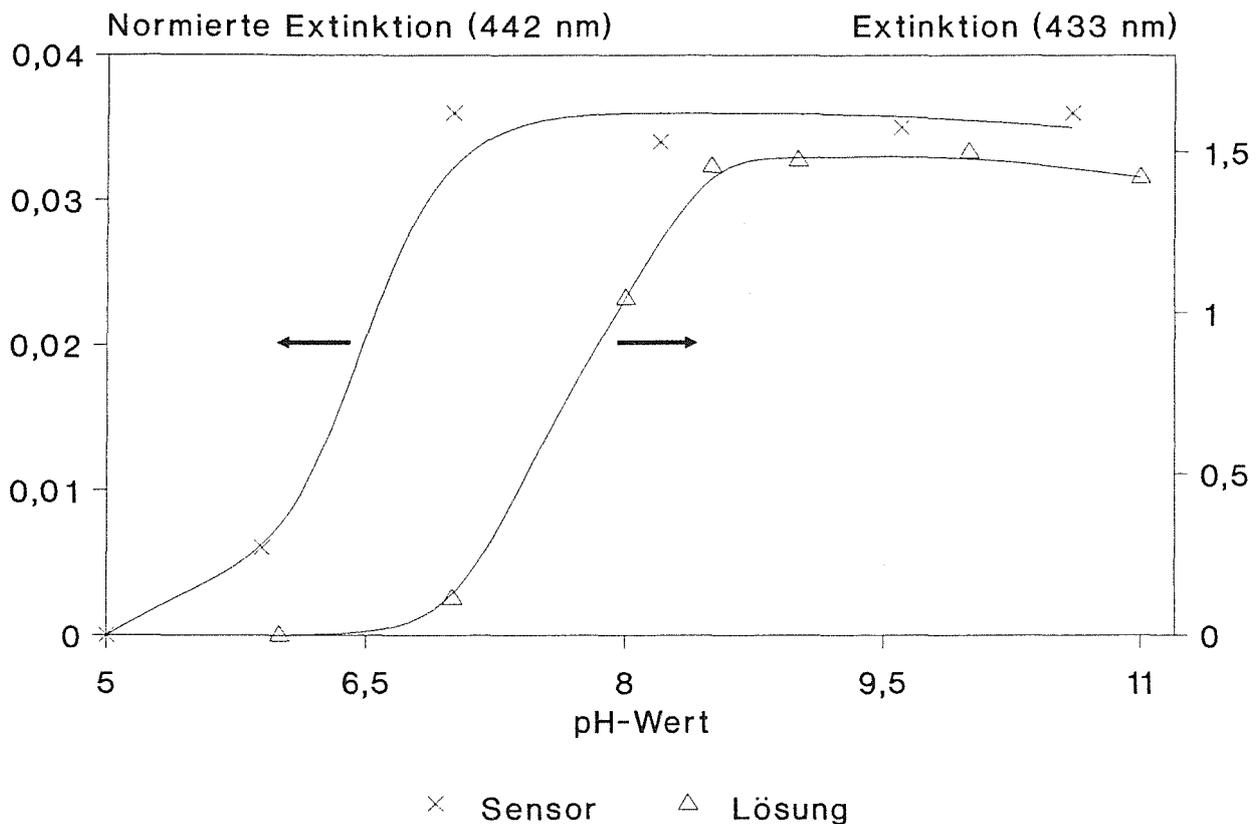
Wie anhand des Absorptionsspektrums (a) eines vorkonditionierten PVC-Sensors zu erkennen ist, bildet sich bei der Komplexbildung von Cadmium durch TPPS in der PVC-Membran eine Bande bei 442 nm nach 20 Minuten aus (b). Durch Überführung in eine Pufferlösung ohne Cadmium wird - unter Berücksichtigung des ausgetragenen Anteils an TPPS - ein dem ursprünglichen Spektrum entsprechendes Spektrum (c) nach 60 Minuten erhalten, d.h. die Reaktion ist reversibel.

Der Farbstoffaustrag aus der Membran ist an den Soret-Banden der Spektren vor und nach einem Meßzyklus (Puffer - Cadmiumzugabe - Puffer) erkennbar.

Um die pH-Abhängigkeit der Cadmiumkomplexbildung zu ermitteln, wurden Sensoren mit innerhalb 10% gleicher Soret-Extinktion in

eine Probelösung mit entsprechendem pH-Wert getaucht, und nach 20 Minuten die Spektren aufgenommen (Abbildung 45).

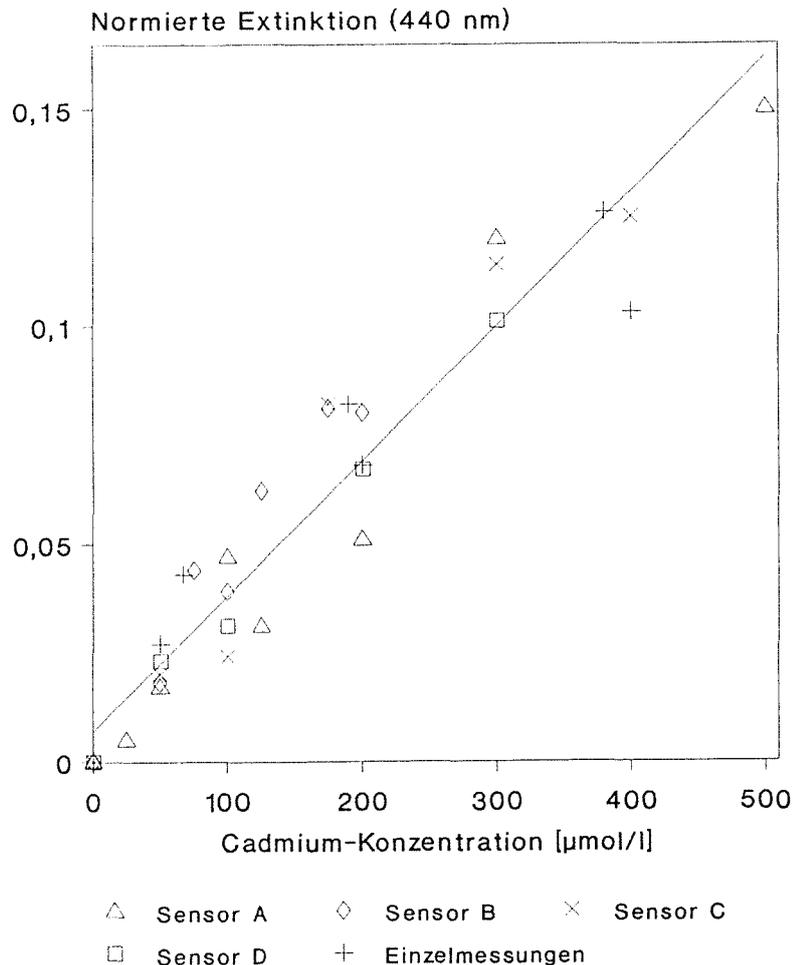
Es zeigte sich, daß oberhalb von  $\text{pH} = 7$  eine nahezu konstante Extinktion bei Erhöhung des pH-Wertes beobachtet wird. Die weitere Charakterisierung dieser PVC-Sensoren wurde mit Hilfe von Lösungen, die mit Tris/HCl auf  $\text{pH} = 8$  gepuffert waren, durchgeführt.



**Abb. 45: pH-Abhängigkeit der Cadmium-Komplexierung von PVC-Sensoren mit TPPS als Chromoionophor und TDMA-Cl als co-Ionophor**

Die PVC-Sensoren wurden nach einer Vorkonditionierung von 5 Minuten in Pufferlösung mit der auf den entsprechenden pH-Wert gepufferten Cadmiumlösung 20 Minuten lang in Kontakt gebracht. Dann wurde das Absorptionsspektrum aufgenommen. Die linke Ordinate gilt für die Verhältnisse im gebundenen Zustand und gibt die auf den Farbstoffanteil des Sensors bezogenen Extinktionen bei 442 nm an. Die rechte Ordinate bezieht sich auf die Ergebnisse, die in Lösung erhalten wurden. Der jeweilige pH-Wert der Lösungen wurden mit dem Puffersystem Tris(hydroxymethyl)aminomethan/HCl eingestellt.

Auf die oben beschriebene Weise wurde die Eichreihe ermittelt. In Abbildung 46 sind die Ergebnisse für vier Sensoren, bei denen die entsprechende Cadmiumkonzentration durch Aufstocken mit Cadmium-Stammlösung eingestellt wurde, und die Ergebnisse von einzelnen Sensoren, die in Kontakt mit Lösungen einer entsprechenden Cadmiumkonzentration waren, gezeigt. Aufgetragen sind dabei die auf den Farbstoffgehalt normierten Extinktionen, wobei der Farbstoffaustrag rechnerisch berücksichtigt wurde.



**Abb. 46: Eichwerte für PVC-Sensoren mit TPPS als Chromoionophor und TDMA-Cl als co-Ionophor**

Die experimentelle Vorgehensweise entspricht der in Abb. 45 beschriebenen. Aufgetragen sind hier die auf den Farbstoffgehalt und den Farbstoffaustrag normierten Extinktionen bei 440 nm von vier Sensoren und von Einzelmessungen gegen die Konzentration der Cadmiumlösung in  $\mu\text{mol/l}$  ( $\text{pH} = 8,0$ ). Die Gerade wurde mit Hilfe einer Regressionsanalyse aller Meßdaten errechnet. Die Nachweisgrenze liegt bei  $c_{\text{Grenz}} = 19 \mu\text{mol/l}$  Cadmium.

Eine Regressionsanalyse aller 33 Meßwerte ergibt eine Gerade, die durch Gleichung (28) beschrieben wird:

$$(28) \quad E_{\text{norm}} = 309,0 \cdot c + 0,007 \quad (r = 0,9600)$$

Die Standardabweichung der Extinktionen von sechs Sensoren bei der Meßwellenlänge betrug 0,0038 Extinktionseinheiten ( $c = 5 \cdot 10^{-5}$  mol/l). Mit dieser Standardabweichung berechnet sich die Nachweisgrenze zu einer Cadmiumkonzentration von  $c_{\text{Grenz}} = 1,9 \cdot 10^{-5}$  mol/l. Dieser Wert liegt um etwa einen Faktor 300 höher als die in wässriger Lösung ermittelte Grenzkonzentration. Eine Abschätzung der Nachweisgrenze mit Hilfe der in Abschnitt 4.5. angegebenen Gleichung (23) ergibt eine Nachweisgrenze von  $c_{\text{Grenz}} \geq 0,8 \cdot 10^{-5}$  mol/l ( $\epsilon = 5 \cdot 10^5 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ;  $d = 0,0005 \text{ cm}$ ;  $E = 0,414$ , vgl. Abschnitt 5.2.2.).

Auch bei diesen Sensoren wurde exemplarisch anhand einiger stark interferierender Ionen die Störung auf den Cadmiumnachweis überprüft. Es stellte sich heraus, daß die Abweichungen der Extinktion, wie in Tabelle 11 zu sehen ist, bei gleichem Konzentrationsverhältnis um einen Faktor 2-3 (mit Ausnahme des Cu(II)) erhöht sind im Vergleich zu den Werten, die beim photometrischen Nachweis erhalten wurden.

**Tabelle 11: Interferenz einiger Schwermetallionen**

interferierendes Ion (M)	Verhältnis [Cd]/[M]	Abweichung in Prozent
Pb(II)	1	- 9,8
Co(II)	1	+ 13,1
Zn(II)	2	+ 17,5
Fe(III)	5	- 14,2
Cu(II)	20	+ 31,2

In der letzten Spalte sind die prozentualen Abweichungen der auf den Farbstoffgehalt bezogenen Extinktionen bei 440 nm relativ zu denen, die ohne interferierendes Ion nur mit Cadmium ermittelt wurde, angegeben.

Ob die spektrale Unterscheidung der Ionen erhalten bleibt, konnte aufgrund des Austrages von Farbstoff aus der Membran nicht ermittelt werden.

Die Standzeit dieser Sensoren ist von der Austraggeschwindigkeit des Farbstoffs abhängig und liegt derzeit in der Größenordnung von etwa acht Stunden.

Zusammenfassend läßt sich bemerken, daß der optische Nachweis von Cadmium mit PVC-Membranen gelingt, die auf der Basis eines co- bzw. counter-Transport mit Hilfe von co-Ionophoren und Porphyrinderivaten als Cadmium-selektive Chromoionophore arbeiten. Die sensitiven Schichten sind reproduzierbar herstellbar und reagieren reversibel mit Cadmium. Die TPP/TDA-Sensoren zeigten eine gute Standzeit (> 12 Tage) bei einer langen Ansprechzeit nach Zugabe von Cadmium (> 8 Stunden). Im Gegensatz dazu erreichen die TPPS/TDMA-Cl-Sensoren eine Ansprechzeit, die dem gesteckten Ziel (Komplexierungsdauer in wässriger Lösung = 20 Min.) entspricht. Die Standzeit dieser Sensoren hängt von der Austraggeschwindigkeit des Farbstoffs ab. Die gegenüber der in wässriger Lösung reduzierte Nachweisgrenze ist ebenso wie bei den VA-Sensoren auf die hohe Konzentration des Farbstoffs zurückzuführen und liegen, wie in Abschnitt 3.3.5. ausgeführt, im Prinzip der Absorptionsmessung begründet.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Ziel dieser Arbeit war es, einen optischen, chemischen Sensor, der reversibel Cadmium detektiert, durch Immobilisierung eines Reagensfarbstoffes auf oder in einer polymeren Matrix zu entwickeln. Nachdem verschiedene Indikatoren geprüft wurden, fiel die Wahl auf Tetraphenylporphyrin-Derivate. In der spektrophotometrischen Analyse haben sie sich aufgrund ihrer Eigenschaften bewährt. Nach der Reaktion mit Cadmium sind deutliche Änderungen ihrer Absorptionsspektren beobachtbar. Es konnte festgestellt werden, daß die im folgenden aufgelisteten Anforderungen an einen Reagensfarbstoff, der für die Entwicklung optischer, chemischer Sensoren eingesetzt werden kann, von dieser Farbstoffklasse erfüllt werden:

- Photochemische Stabilität vor und nach der Reaktion
- Hinreichend schnelle Reaktion mit dem Analyten
- Hohe Sensitivität und Selektivität
- Möglichkeit der chemischen Immobilisierung über funktionelle Gruppen, die nicht denen entsprechen, die für die Nachweisreaktion notwendig sind.
- Reversible Reaktion mit dem Analyten

Zunächst wurde unter Verwendung des wasserlöslichen 5,10,15,20-meso-Tetra(p-sulfophenyl)porphyrin (TPPS) ein photometrischer Nachweis auf Cadmium(II)-Ionen in wässriger, alkalischer Lösung (pH = 9,0) entwickelt. Er beruht auf der direkten Komplexierung von Cadmium ((1:1)-Komplex). Die photochemische Stabilität des Farbstoffs und des Cadmiumkomplexes ist sehr gut (> 24 Std.). Innerhalb von 20 Minuten bildet sich der Komplex aus. Für die weiteren Untersuchungen nach erfolgter Immobilisierung des Farbstoffs wurde diese Reaktionszeit als Ziel angestrebt. Die Nachweisgrenze lag bei  $c_{\text{Grenz}} = 6 \cdot 10^{-8}$  mol/l. Das entwickelte Nachweisverfahren kommt ohne Extraktion der wässrigen Probenlösung

und ohne Hilfsreagentien aus. Es ist deshalb sehr einfach durchzuführen und erreicht dennoch die Nachweisempfindlichkeit anderer spektrophotometrischer Verfahren für Cadmium. Insbesondere die Selektivität gegenüber stark interferierender Schwermetallionen kann bei diesem Indikator entscheidend verbessert werden, da sich die Absorptionsspektren der entsprechenden Komplexe von denen des Cadmiumkomplexes unterscheiden. Das wird bei anderen Indikatoren in der Regel nicht beobachtet. Wie am Beispiel von Gemischen aus Cd(II)-, Hg(II)- und Pb(II)-Lösungen gezeigt werden konnte, ist es möglich, beim Einsatz eines statistischen Auswerteverfahrens die Interferenz anderer Ionen beim Cadmiumnachweis zu erkennen und zu quantifizieren.

Für die Entwicklung einer optisch sensitiven Schicht ist man bestrebt den Reagensfarbstoff chemisch zu immobilisieren. Porphyrinderivate scheinen dafür ideale Voraussetzungen zu bieten: Zur Komplexierung dienen die funktionellen Gruppen im Innern des Porphyrinrings, während die Immobilisierung über andere funktionelle Gruppen erfolgt. Damit wird die Reaktionsfähigkeit des Indikators nicht beeinträchtigt.

Nachfolgend wurde dieser Farbstoff an eine bzw. in einer polymeren Matrix immobilisiert. Aus der Vielzahl der getesteten Polymere, die für die Herstellung der sensitiven Schicht des optischen, chemischen Sensors in Frage kämen, wurde VA-Epoxy - ein quervernetztes Poly(vinylacetat) mit Oxiranringen als funktionelle Ankergruppen - und Poly(vinylchlorid) ausgewählt. Das pulverförmige VA-Epoxy ist in keinem, für eine Membranherstellung geeigneten Lösungsmittel (hoher Dampfdruck) löslich. Das entwickelte Verfahren bei der Herstellung der Sensoren mit VA-Epoxy-Pulver (VA-Sensoren) gewährleistet eine gute Reproduzierbarkeit (Abweichung: 6,2 %; n = 6). Die mit TPPS hergestellten VA-Sensoren hatten bei ständigem Einsatz eine Standzeit von ca. 7 Tagen. Nach dieser Zeit war eine Abnahme der Intensität des Absorptionsspektrums um 7,1 % zu beobachten. Der optimale pH-Wert für den Nachweis von Cadmium lag beim immobilisierten TPPS bei pH = 11,5.

Bei Anbindung des TPPS über ein spacer-Molekül (1,3-Diaminopropan) war die Ansprechzeit des VA-Sensors mit der Komplexbildungsdauer in wässriger Lösung vergleichbar bzw. maximal um einen Faktor zwei erhöht. Die gegenüber dem photometrischen Nachweis in Lösung um etwa das 200-fache reduzierte Nachweisempfindlichkeit des Sensors ist auf die hohe Konzentration an Farbstoff auf der Matrix zurückzuführen. Auch der immobilisierte Farbstoff zeigt die in wässriger Lösung erhaltenen charakteristischen Absorptionsspektren verschiedener Metallspezies. Der Sensor reagiert reversibel auf Cadmium. Dies eröffnet die Möglichkeit eines kontinuierlichen Einsatzes dieser Sensoren.

Poly(vinylchlorid) (PVC) wurde ebenfalls als Matrix für die Sensorherstellung verwendet. Die Löslichkeit dieses Polymers in Tetrahydrofuran ermöglicht es, Membranen herzustellen. Speziell die Herstellung dünner Membranen (kurze Diffusionswege) erlaubt die Beschichtung geeigneter transparenter Trägermaterialien (Lichtleiter, waveguide-Küvetten etc.). Mit einem einfachen spin-coating Verfahren wurden stabile PVC-Schichten von  $< 10 \mu\text{m}$  Dicke auf Glasträgern hergestellt. Die erreichte Reproduzierbarkeit bei der Herstellung betrug 82,6 % ( $n = 26$ ). Die Standzeit der PVC-Schichten, die das hydrophobe 5,10,15,20-*meso*-Tetraphenylporphyrin (TPP) enthielten (PVC-Sensoren), lag bei ca. 12 Tagen. Nach dieser Zeit ist eine irreversible Rotverschiebung des Spektrums zu beobachten. Die Ansprechzeit ist mit über 8 Stunden für eine Anwendung in der Praxis zu lang. Aus diesem Grund wurden PVC-Sensoren mit dem hydrophilen TPPS als Reagensfarbstoff untersucht. Die Standzeit ist hierbei durch die Austragggeschwindigkeit des Indikators terminiert (ca. 8 Stunden). Diese Sensoren zeigen schon oberhalb  $\text{pH} = 7$  ein konstantes Cadmiumsignal, was eine praktische Anwendung in neutralen Medien erlauben würde. Die als Ziel gesetzte Ansprechzeit von 20 Minuten wird mit diesen Sensoren erreicht. Die Nachweisempfindlichkeit ist aufgrund der hohen lokalen Konzentration in der Membran um den Faktor 330 reduziert im Vergleich zum photometrischen Nachweis in Lösung. Auch bei

Verwendung von PVC als Matrix ist die Reaktion auf Cadmium in beiden Fällen (TPP und TPPS) reversibel.

Mit dem untersuchten Porphyrinderivat steht ein sensitiver Reagensfarbstoff für die Entwicklung eines optischen, Cadmium-spezifischen Sensors zur Verfügung. Die spektroskopische Differenzierung - aufgrund deutlich unterscheidbarer Absorptionsbanden - erlaubt eine qualitative und auch quantitative Bestimmung weiterer Ionen neben Cadmium.

Bei den entwickelten VA-Sensoren bleibt die spektrale Charakteristik der verschiedenen Metallkomplexe erhalten. Dadurch stehen selektive Sensoren zur Verfügung, die bei Anwendung statistischer Auswertemethoden die Möglichkeit der Multielement-Analyse bieten.

Die reduzierte Sensitivität des Nachweises ist durch die hohe Konzentration des Farbstoffs auf bzw. in der Polymermatrix vorgegeben. Als Ausweg wäre zu prüfen, ob die Fluoreszenzeigenschaften der Porphyrinderivate für den Nachweis genutzt werden können. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit der Fluorimetrie ließe sich die Menge an Reagensfarbstoff stark reduzieren. Dies wiederum würde die Nachweisempfindlichkeit verbessern.

Eine Verbesserung der Nachweisempfindlichkeit würde auch durch Änderung der geometrischen Anordnung folgendermaßen erreicht werden: Mit Hilfe eines Glasstabs, der mit einer sensitiven Membran beschichtet ist (intrinsischer Sensor), ließe sich durch mehrfache Wechselwirkung des Lichts mit dem Reagensfarbstoff (Vielfachreflexion) die optische Schichtdicke erhöhen. Gemäß dem Lambert-Beer'schen Gesetz würde man die gleiche Absorption mit einer geringeren Konzentration an Farbstoff erreichen.

Für eine weitere Entwicklung von Cadmium-sensitiven PVC-Sensoren bietet sich an, die Vorteile der Sensoren mit dem lipophilen TPP (lange Standzeit) mit denen der Sensoren mit dem hydrophilen TPPS (schnelle Ansprechzeit) zu kombinieren. Eine denkbare Möglichkeit

wäre, ein teilweise sulfoniertes TPP-Derivat (Hydrophilie) derart zu modifizieren, daß es einen lipophilen Charakter erhält. Könnten mit diesem Derivat stabile PVC-Membranen hergestellt werden, so würde sich auch hier die Möglichkeit der Multielement-Analyse eröffnen.

Durch Aufbringen von Cadmium-sensitiven Schichten auf Lichtleiter ist u.a. auch die Möglichkeit der Miniaturisierung gegeben. Denkbar wäre die Entwicklung kleiner "in-line"-Analysatoren. Die hierzu erforderlichen "optischen Multiplexer" und weiteren integriert-optischen Bauelemente könnten mit Hilfe von Mikrostruktur-techniken hergestellt werden. Die Kombination von integriert-optischen Mikrosensoren mit angepaßter Mikroelektronik zu einem Sensorarray bzw. Sensorsystem gestattet eine "real-time"-Meßwerterfassung und gleichzeitig die Auswertung, Anzeige und Dokumentation der Daten. In Verbindung mit adäquaten Aktoren lassen sich Sensorsysteme zur Steuerung und Regelung von Prozessen einsetzen.



## 7. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] P. Kubelka, F. Munk; Z. Techn. Phys., 12 (1931), 593
- [2] G. Kortüm "Reflexionsspektroskopie", Springer-Verlag, 1969
- [3] H.-H. Perkampus; "UV-VIS-Spektroskopie und ihre Anwendungen", Springer, 1986, 81
- [4] G. Kortüm, M. Friz; Ber. Bunsenges. Phys. Chem., 73(6) (1969), 605
- [5] M. Zander; "Fluorimetrie", Springer-Verlag, 1981
- [6] T. Nowicka-Jankowska, K. Gorczynska, A. Michalik, E. Wietcska; in: G. Svehla (Ed.), "Comprehensive analytical chemistry", Vol. 19, Elsevier, 1986, 391
- [7] J.L. Soret; Comp. Rend., 97 (1883), 1267
- [8] J.W. Buchler; in: D. Dolphin (Ed.), "The Porphyrins", Vol. I, Academic Press, 1978, 389
- [9] M. Gouterman; J. Chem. Phys., 30 (1959), 1139
- [10] M. Gouterman; J. Chem. Phys., 33 (1960), 1523
- [11] M. Gouterman; J. Mol. Spectrosc., 6 (1961), 138
- [12] J.B. Kim, J.J. Leonard, F.R. Longo; J. Am. Chem. Soc., 94 (1972), 3986
- [13] G.D. Dorough, J.F. Miller, F.M. Huennekens, J. Am. Chem. Soc., 73 (1951), 4315
- [14] M. Gouterman; J. Chem. Phys., 30(5) (1959), 1139
- [15] M. Gouterman; in: D. Dolphin (Ed.), "The Porphyrins", Vol. III, Academic Press, 1978
- [16] J.W. Buchler; in : K.M. Smith (Ed.), "Porphyrins and metalloporphyrins", Elsevier Scientific Publishing Company, 1975
- [17] J.N. Phillips; Rev. Pure Appl. Chem., 10(1) (1960), 35
- [18] J.E. Falk; "Porphyrins and metalloporphyrins", Elsevier, 1964
- [19] C.V. Banks, R.E. Bisque; Anal. Chem, 29(4) (1957), 522
- [20] K.L. Cheng, K. Ueno, T. Imamamura (Ed.); "Handbook of organic analytical reagents", CRC Press, Inc., 1982

- [21] H. Ishii, H. Koh, K. Satoh; *Anal. Chim. Acta*, **136** (1982), 347
- [22] H. Ishii, H. Koh; *Mikrochim. Acta [Wien]*, 1983 I, 279
- [23] H. Ishii, H. Koh; *Talanta*, **24** (1977), 417
- [24] H. Ishii, H. Koh, K. Satoh; *Bunseki Kagaku*, **31** (1982), E389
- [25] H. Ishii, H. Koh, K. Satho; *Analyst*, **107** (1982), 647
- [26] T. Shen-Yang, S. Guo-Bin; *Acta Chim. Sinica*, **46** (1988), 812
- [27] X. Zhong-Jun, W. Huai-Qui, P. Jiao-Mai; *Acta Chim. Sinica*, **47** (1989), 918
- [28] S. Igarashi, K. Uchiyama, T. Yotsuyanagi; *Bunseki Kagaku*, **37** (1988), 331
- [29] H. Arai, K. Eguchi, T. Hashiguchi; *Chem. Lett.*, (1988), 521
- [30] F. Oehme; *Technische Mitteilungen*, **79(9)** (1986), 403
- [31] W.R. Seitz; *CRC Critical Rev. Anal. Chem.*, **19** (1988), 135
- [32] T.R. Glass, S. Lackie, T. Hirschfeld; *Appl. Optics*, **26(11)** (1987), 2181
- [33] R. Czolk; *Praktikumsvorschrift zum Versuch "Faseroptischer pH-Sensor" des Praktikums für Instrumentelle Analytik der TU Karlsruhe*
- [34] J. Reichert, R. Czolk, W. Sellien, H.J. Ache; "Chemical sensors in environmental analysis", NATO Advanced Study Institute: Conf. on Metal Speciation in the Environment, Cesme-Izmir, TR, October 9-20, 1989
- [35] W.R. Seitz, L.A. Saari, Z. Zhujun, S. Pokornicki, R.D. Huston, S.C. Sieber, M.A. Ditzler; "Metal ion sensors based on immobilized fluorogenic ligands", ASTM special technical publication, 836.1985 (1985), 63
- [36] D.W. Lübbers, N. Opitz; *Z. Naturforsch.*, **30c** (1975), 532
- [37] W. Göpel; in: M. Syrbe, M. Thoma (Hrsg.), "Fachberichte: Messen-Steuern-Regeln", Vol. 14, Springer Verlag, 1986, 88
- [38] W.R. Seitz; *Anal. Chem.*, **56(1)** (1984), 16A
- [39] O.S. Wolfbeis; *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **325** (1986), 387
- [40] J. Janata, A. Bezegh; *Anal. Chem.*, **60** (1988), 62R
- [41] R. Narayanaswamy, F. Sevilla III; *J. Phys. E: Sci. Instrum.*, **21** (1988), 10
- [42] "Fiber optic chemical sensors"; *Talanta*, **35** (1988), Heft 2

- [43] J. Janata; *Anal. Chem.*, **62** (1990), 33R
- [44] L.A. Saari, W.R. Seitz; *Anal. Chem.*, **54** (1982), 821
- [45] G.F. Kirkbright, R. Narayanaswamy, N.A. Welti; *Analyst*, **109** (1984), 1025
- [46] A.M. Scheggi, F. Baldini; *Optica Acta*, **33(12)** (1986), 1587
- [47] M.S. Fuh, L.W. Burgess, T. Hirschfeld, G.D. Christian, F. Wang; *Analyst*, **112** (1987), 1159
- [48] R. Czolk, E. Gantner, H.J. Ache; in: R.D. Schmid (Ed.), "Biosensors: International workshop 1987", GBF Monographs, Vol. 10, VCH Weinheim, 1987, 307
- [49] O.S. Wolfbeis, A. Sharma; *Anal. Chim. Acta*, **208** (1988), 53
- [50] J.F. Giuliani, H. Wohltjen, N.L. Jarvis; *Optics Lett.*, **8** (1983), 54
- [51] S. Muto, A. Ando, T. Ochiai, H. Ito, H. Sawada, A. Tanaka; *Jap. J. Appl. Phys.*, **28(1)** (1989), 125
- [52] Q. Zhou, D. Kritz, L. Bonnell, G.H. Sigel, Jr.; *Appl. Optics*, **28(11)** (1989), 2022
- [53] Z. Zhujun, W.R. Seitz; *Anal. Chim. Acta*, **171** (1985), 251
- [54] *Anal. Chem.*, **58(7)** (1986), 766A
- [55] R.D. Schmid, F. Scheller (Ed.); "Biosensors: Applications in medicine, environmental protection and process control", GBF Monographs, Vol. 13, VCH Weinheim, 1989
- [56] M. Mascini, G. Palleschi; *Selective Electrode Rev.*, **11** (1989), 191
- [57] S. Luo, D.R. Walt; *Anal. Chem.*, **61** (1989), 1069
- [58] T.J. Kulp, I. Camins, S.M. Angel, C. Munkholm, D.R. Walt; *Anal. Chem.*, **59** (1987), 2849
- [59] W. Trettnak, O.S. Wolfbeis; *Anal. Lett.*, **22(9)** (1989), 2191
- [60] B.S. Walters, T.J. Nielsen, M.A. Arnold; *Talanta*, **35(2)** (1988), 151
- [61] O.S. Wolfbeis, B.P.H. Schaffar; *Anal. Chim. Acta*, **198** (1987) 1
- [62] Z. Zhujun, J.L. Mullin, W.R. Seitz; *Anal. Chim. Acta*, **184** (1986), 2251
- [63] D.W. Lübbers, N. Opitz, P.P. Speiser, H.J. Bisson; *Z. Naturforsch.*, **32c** (1977), 133

- [64] W.E. Morf, K. Seiler, B. Rusterholz, W. Simon; *Anal. Chem.*, **62** (1990), 738
- [65] W. Trettnak, O.S. Wolfbeis; *Anal. Chim. Acta*, **221** (1989), 195
- [66] S.S.S. Tan, P.C. Hauser, N.A. Chaniotakis, G. Suter, W. Simon; *Chimia*, **43** (1989), 257
- [67] K. Seiler, W.E. Morf, B. Rusterholz, W. Simon; *Anal. Sciences*, **5** (1989), 557
- [68] W.E. Morf, K. Seiler, B. Lehmann, C. Behringer, K. Hartmann, W. Simon; *Pure & Appl. Chem.*, **61(9)** (1989), 1613
- [69] J. Gitzel; Dissertation der Universität Bremen, 1987
- [70] Küster-Thiel; "Rechentafeln für die chemische Analytik", de Gruyter, 1982
- [71] Röhm Pharma GmbH, Weiterstadt; "Immobilisierung eines epoxy-aktivierten spacers an EUPERGIT C", BV-2/d, (3/1989)
- [72] Instruction Manual, ISR-260; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan, CME101-760C, Seite 4
- [73] R. Bock; "Methoden der Analytischen Chemie", Bd.2, Teil 1, VCH Weinheim, 1980, 153
- [74] H. Ishii, K. Satoh, Y. Satoh, H. Koh; *Talanta*, **29** (1982), 545
- [75] M. Komata, J. Itoh; *Talanta*, **35** (1989), 723
- [76] M. Tabata, M. Tanaka; *Mikrochim. Acta [Wien]*, 1982 II, 149
- [77] A. Corsini, R. DiFruscia, O. Herrmann; *Talanta*, **32(8B)** (1985), 791
- [78] T.P. Hadjiioannou, G.D. Christian, C.E. Efstathiou, D.P. Nikolelis; "Problem solving in analytical chemistry", Pergamon Press, 1988, 341
- [79] R.S. Mulliken, W.B. Pearson; "Molecular complexes", Wiley, 1969, 84
- [80] E.R. Malinowski, D.G. Howery, P.H. Weiner, J.H. Soroka, P.T. Funke, R.S. Selzer, A. Levinstone; Programm "FACTANAL" (Programm-Nr. QCMP040, Quantum Chemistry Program Exchange, Indiana University)
- [81] S. Schoof, R. Czolk, J. Reichert, H.J. Ache; in Vorbereitung

- [82] H.M. Widmer; *Chimia*, **43** (1989), 37
- [83] D.S. Goldman; *American Laboratory*, Heft 11 (1988), 102
- [84] R.E. Dessy; *Anal. Chem.*, **61(19)** (1989), 1079A
- [85] B.K. Pal, U. Kabiraj, M. Ukiluddin; *Analyst*, **112** (1987), 171
- [86] A. Fernandez-Gutierrez, A.M. de la Peña; in: S.G. Schulman (Ed.), "Molecular luminescence spectroscopy", Part 1; *Chemical Analysis Series*, Vol. 77, Wiley & Sons, 1989, 435
- [87] G.M. Badger, R.A. Jones, R.L. Lasletty; *Aust. J. Chem.*, **17** (1964), 1028
- [88] G. Krawczyk; *Dissertation der Universität Bremen* (1988), 187
- [89] R.F. Pasternack, P.R. Huber, P. Boyd, G. Engasser, L. Francesoni, E. Gibbs, P. Fasella, G.C. Venturo, L. deC. Hinds, *J. Am. Chem. Soc.*, **94(13)** (1972), 4511
- [90] K.M. Kadish, G.B. Maiya, C. Aranullo, R. Guilard; *Inorg. Chem.*, **28** (1989), 2725
- [91] L.A. Saari, W.R. Seitz; *Anal. Chem.*, **56(4)** (1984), 810
- [92] Z. Zhujun, W.R. Seitz; *Anal. Chem.*, **58** (1986), 220
- [93] T.P. Jones, M.D. Porter; *Anal. Chem.*, **60** (1988), 404
- [94] L.A. Saari, W.R. Seitz; *Anal. Chem.*, **55** (1983), 667
- [95] H.E. Posch, O.S. Wolfbeis; *Anal. Chim. Acta*, **185** (1986), 321
- [96] T.J. Kulp, I. Camins, S.M. Angel, C. Munkholm, D.R. Walt; *Anal. Chem.*, **59** (1987), 2849
- [97] Y. Kawabata, R. Tahara, T. Imasaka, N. Ishibashi; *Anal. Chim. Acta*, **212** (1988), 267
- [98] K. Suzuki, K. Tohda, Y. Tanda, H. Ohzora, S. Nishihama, H. Inoue, T. Shirai; *Anal. Chem.*, **61** (1989), 382
- [99] J. Polster, H. Lachmann; "Spectrometric titrations", VCH-Verlag, 1989, 40
- [100] L.A. Saari, W.R. Seitz; *Analyst*, **109** (1984), 655
- [101] S. Yoshida, S. Hayano; *J. Am. Chem. Soc.*, **108** (1986), 3903
- [102] C.W. McDonald, F.L. Moore; *Anal. Chem.*, **45(6)** (1973), 983
- [103] W. Simon; in: R. Lefever, A. Goldbeter (Ed.), "Advances in Chemical Physics", Vol. 39, Wiley & Sons, 1978, 288

- [104] R.A. Fisher, Y. Yates; "Statistical tables for biological, agricultural and medical research", Oliver and Boyd Ltd., Edinburgh, 1963, 46 (Tafel III)

## 8. ANHANG

## A1) Abkürzungen

$c_{\text{Grenz}}$	= Nachweisgrenze
Cd-TPP	= Cadmium-TPP-Komplex
DMF	= Dimethylformamid
DOS	= Bis(2-ethylhexyl)sebacat
$E_{\text{norm}}$	= auf den Farbstoffgehalt normierte Extinktion
$E_{\text{rel}}$	= relative Extinktion
$F(R_{\infty})$	= Kubelka-Munk-Funktion zur Beschreibung des remittierten (reflektierten) Lichts
$F(R_{\infty})_{\text{norm}}$	= auf den Farbstoffgehalt normierte Remission
KTpClPB	= Kalium-Tetrakis(p-Chlorphenyl)Borat
$\lambda$	= Wellenlänge
M	= Metall
{P}	= Porphyrin
PVA	= Poly(vinylalkohol)
PVC	= Poly(vinylchlorid)
r	= Korrelationskoeffizient
$R_{\infty}$	= Remission
$R_{\infty}'$	= relative Remission
s	= Standardabweichung
$s_{x.y}$	= mittlere Abweichung von Meßwerten von der Regressionsgeraden
TDA	= Tridodecylamin (Protonen-Ionophor)
TDMA-Cl	= Tridodecylmethyllammonium-Chlorid (Anionen-Ionophor)
THF	= Tetrahydrofuran
TPP	= 5,10,15,20-meso-Tetraphenylporphyrin
TPPC	= 5,10,15,20-meso-Tetra(p-carboxyphenyl)porphyrin
TPPN	= 5,10,15,20-meso-Tetra(p-aminophenyl)porphyrin
TPPS	= 5,10,15,20-meso-Tetra(p-sulfophenyl)porphyrin (Na-Salz)
TPPS-Cl	= 5,10,15,20-meso-Tetra(p-sulfophenyl)porphyrin (Sulfonsäurechlorid)
Tris	= Tris(hydroxymethyl)aminomethan
UV	= Ultraviolettes Licht
VIS	= Sichtbares Licht

**A2) Berechnung der für eine Potentialänderung von 59 mV notwendigen Zahl an Ladungsträgern**

- (1)  $n = N/N_0$        $N$  = Zahl der Teilchen  
                                   $N_0$  = Avogadro-Konstante =  $6,023 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
- (2)  $N = Q/e$        $Q$  = Ladung  
                                   $e$  = Elementarladung =  $1,6 \cdot 10^{-19} \text{ As}$
- (3)  $Q = U \cdot C$        $U$  = Potential = 59 mV  
                                   $C$  = Kapazität
- (4)  $C = \epsilon \cdot \epsilon_0 \cdot A/d$        $\epsilon$  = Dielektrizitätskonstante von PVC = 4,2 [103]  
                                   $\epsilon_0$  =  $8,8 \cdot 10^{-12} \text{ As/Vm}$   
                                   $A$  = Fläche der Membran =  $10^{-4} \text{ m}^2$   
                                   $d$  = Dicke der Membran =  $10^{-5} \text{ m}$

Durch Einsetzen der Gleichungen (2)-(4) in (1) errechnet sich die Menge der Teilchen, die notwendig sind, um an einer PVC-Membran mit den angegebenen Ausmaßen ein Potential von 59 mV zu erzeugen, zu:

$$\rightarrow n = 2,26 \cdot 10^{-16} \text{ mol}$$

### A3) $t_{n,\alpha}$ -Werte der Student-t-Verteilung

Die  $t_{n,\alpha}$ -Werte sind einer Tabelle von [104] entnommen für den einseitigen Test mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,01$ . 'n' ist die Zahl der Freiheitsgrade, die sich aus der Zahl der Meßwerte 'm' wie folgt berechnet:

$$n = m - 1$$

$t_{n,\alpha}$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
n	31,821	6,965	4,451	3,747	3,365	3,143	2,998	2,896	2,821	2,764

$t_{n,\alpha}$	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
n	2,718	2,681	2,650	2,624	2,602	2,583	2,567	2,552	2,539	2,528

$t_{n,\alpha}$	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
n	2,518	2,508	2,500	2,492	2,485	2,479	2,473	2,467	2,462	2,457

$t_{n,\alpha}$	32	34	36	38	40	42	45	47	50
n	2,449	2,441	2,434	2,429	2,423	2,418	2,412	2,408	2,403

**A4) Ergebnisse der Berechnung mit dem Auswertprogramm FACTANAL**

In der Tabelle sind die eingesetzten und die mit FACTANAL aus den Absorptionsspektren der entsprechenden Mischungen berechneten Konzentrationen in  $\mu\text{mol/l}$  angegeben.

Cd(II)	Hg(II)	Pb(II)	Cd (berechnet)
0,125	0,875	1,5	0,124
0,25	0,75	1,5	0,258
0,375	1,25	0,75	0,384
0,5	1,0 2,0 1,0	1,0	0,505
		2,0	0,510
			0,490
		1,0	0,504
		1,0	0,510
0,75	0,75	0,75	0,760
1,0	1,0 1,5 0,75	1,0	1,030
		1,5	1,030
			1,035
			1,039
		0,75	1,002

## **A5) Poly(vinylalkohol)-Sensoren**

### **a) Beschreibung der Matrix**

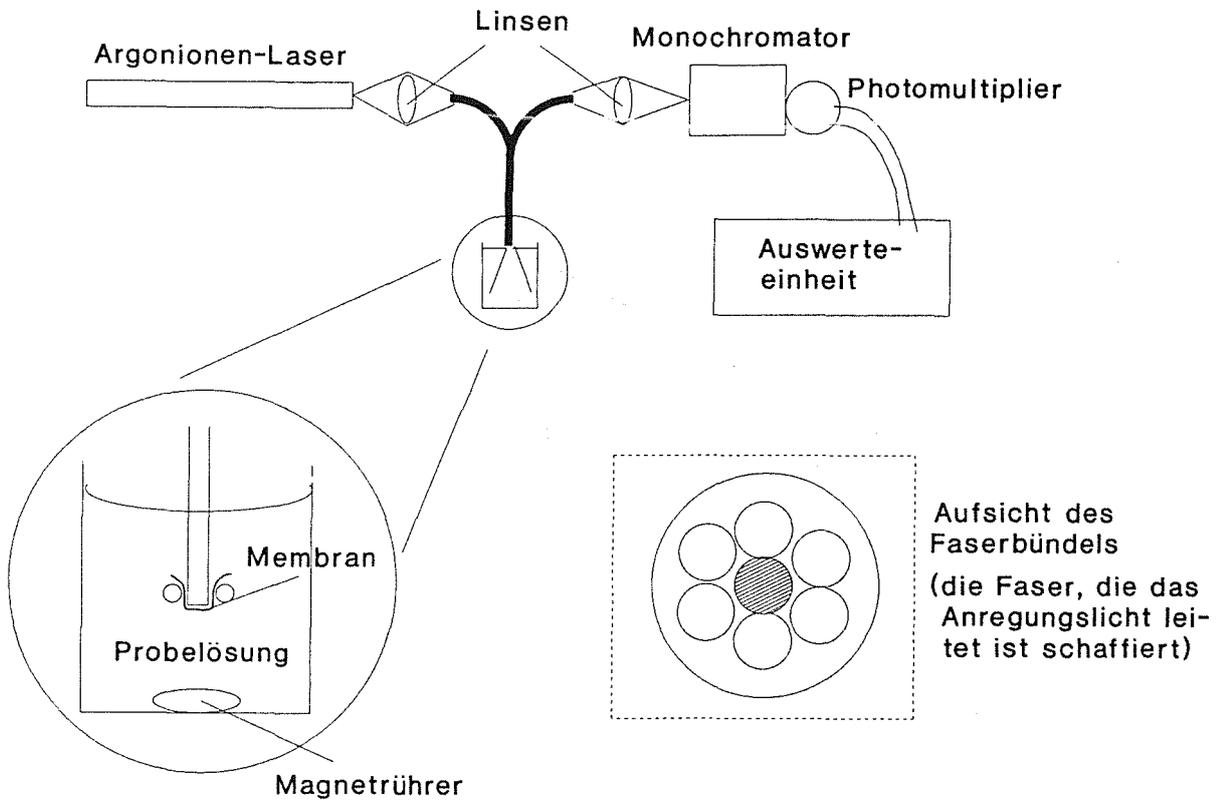
Es wurde Poly(vinylalkohol) (PVA) eingesetzt mit einem mittleren Molekulargewicht von 10000 (PVA-10) und 40000 (PVA-40) (Fa. Sigma, Deisenhofen). Wässrige Lösungen wurden hergestellt, indem 1 g PVA in 100 ml kalten (für PVA-10) bzw. heißem Wasser (für PVA-40) gerührt wurden, bis alles gelöst war. Es zeigte sich, daß Lösungen von PVA-10 leichter herzustellen waren als Lösungen von PVA-40. Membranen erhielt man aus diesen PVA-Lösungen, indem 3 ml der PVA-Lösung in einen Teflonadapter mit 5 cm Durchmesser pipettiert wurden. Nach Verdunsten des Wassers über Nacht konnten die trockenen Membranen weiterbehandelt werden. Es stellte sich heraus, daß Membranen aus PVA-40 auch ohne Quervernetzung stabil in Wasser waren.

### **b) Immobilisierung des Farbstoffs**

Die fertigen Membranen wurden mit Cyanurchlorid (Aldrich) gemäß einer Vorschrift von Saari und Seitz [44] umgesetzt, um im zweiten Schritt Morin zu immobilisieren. Dazu wurden gleichzeitig je 2 ml acetonische Cyanurchloridlösung (0,025 g/ml) und Wasser auf die trockene Membran im Teflonadapter pipetiert und ca. eine Minute die Lösung geschwenkt. Dann wurde die Reaktion durch Zugabe von 1 ml 20%-ige Essigsäure unterbrochen. Nach Dekantieren der überstehenden Reaktionslösung mußte die Membran mit Aceton gut gewaschen werden, um anschließend Morin immobilisieren zu können. Zur Immobilisierung wurde die Membran mit 5 ml einer acetonischen Morinlösung ( $10^{-4}$  mol/l; 2% Pyridin) eine halbe Stunde lang umgesetzt, und die Membran daraufhin gut mit Wasser und Aceton gespült. In dieser Form waren die PVA-Membranen einsatzbereit.

### **c) Fluoreszenzmessung**

Für die Fluoreszenzmessungen stand die schematisch dargestellte Apparatur zur Verfügung.



### ***Schematische Anordnung des Laserfluorimeter***

Erläuterung siehe Text.

Das emittierte Licht des  $\text{Ar}^+$ -Ionenlasers (467 nm) wurde über ein entsprechendes Linsensystem in die mittlere Faser eines konzentrischen Faserbündels eingekoppelt. Am gemeinsamen Lichtleiterende wurden die Membranen mit immobilisiertem Farbstoff mittels eines O-Ringes fixiert. Die durch das Laserlicht angeregte Fluoreszenz ( $\lambda_{\text{max}} = 537 \text{ nm}$ ) wurde über die übrigen Fasern zum Detektorsystem, bestehend aus Monochromator, Photomultiplier und Auswerteeinheit mit Spannungsversorgung geführt.

**A6) Gleichungen für Regressionsgeraden einzelner Sensoren****a) VA-Sensoren**

Sensor A  $F(R_{\infty}') = 1049,4 \cdot c + 0,009$  ( $r = 0,9939$ ; 7 Meßwerte)

Sensor B  $F(R_{\infty}') = 1206,5 \cdot c + 0,015$  ( $r = 0,9917$ ; 8 Meßwerte)

Sensor C  $F(R_{\infty}') = 1249,0 \cdot c - 0,0006$  ( $r = 0,9894$ ; 7 Meßwerte)

Sensor D  $F(R_{\infty}') = 1115,9 \cdot c + 0,015$  ( $r = 0,9600$ ; 9 Meßwerte)

**b) PVC-Sensoren (co-Transport)**

Sensor A  $E_{\text{norm}} = 315,6 \cdot c + 0,001$  ( $r = 0,9720$ ; 8 Meßwerte)

Sensor B  $E_{\text{norm}} = 425,7 \cdot c + 0,002$  ( $r = 0,9745$ ; 7 Meßwerte)

Sensor C  $E_{\text{norm}} = 335,5 \cdot c + 0,004$  ( $r = 0,9701$ ; 6 Meßwerte)

Sensor D  $E_{\text{norm}} = 329,1 \cdot c + 0,002$  ( $r = 0,9968$ ; 5 Meßwerte)