

- [31] Vgl. Achema-Jahrbuch 1973–76, S. 232 sowie Plastic and Rubber Processing, Juni 1976, S. 69, und [21, 28].
- [32] Th. Schmidt, Tech. Mitt. 59, 365 (1966).
- [33] H. Krebs, Diplomarbeit, Universität Hamburg 1975.
- [34] G. Bock, Diplomarbeit, Universität Hamburg 1975.
- [35] J. Döring, Diplomarbeit, Universität Hamburg 1976.
- [36] H. W. Schnecko, Chem.-Ing.-Tech. 48, 443 (1976).
- [37] „Blick durch die Wirtschaft“ 31, 6. Febr. 1975, S. 3.
- [38] Waste Tire Treatment by Thermal Cracking. Cobe Steel, Jpn. chem. Week, 26. Juli 1973, S. 3.
- [39] Angaben der Firma Cobe Steel Co., Ltd.; vgl. [21].
- [40] Firmenschrift O. Herbold, Maschinenfabrik, Meckesheim.
- [41] J. Menzel, H. Perkow u. H. Sinn, Proceedings of the S.C.I.-DECHEMA Conference, Trinity College, Cambridge 1973.
- [42] A. Takamura, K. Inoue u. T. Sakai in [2], dort S. 532; vgl. auch [36].
- [43] F. Zeplichal, Chem.-Anlagen + Verf. Sept. 1971, 61.
- [44] Brit. Pat. 1 338 130 (1971).
- [45] E. Douglas, M. Webb u. G. R. Daborn, Symposium, Institute of Solid Waste Management, Manchester, Jan. 1974; vgl. [21].
- [46] F. Fink, Umsch. Wiss. Tech. 74, 56 (1974).
- [47] R. Rasch, Chem.-Ztg. 98, 253 (1974).
- [48] E. Zulver u. E. D. Stewart in [2], dort S. 238.
- [49] J. E. Anderson, National Incinerator Conference, Miami, Florida, Mai 1974.
- [50] E. Legille, F. A. Berczynski u. K. G. Heiss in [2], dort S. 232.
- [51] W. S. Sanner, US Bur. Mines Rep. Invest. 7428, Aug. 1970; P. Schmidt, Umwelt 4, Nr. 4, S. 39 (1974).
- [52] J. E. Browning, Chem. Eng. 78, Nr. 15, S. 44 (1971).
- [53] US-Pat. 2 937 151 (1960), Goodyear Tire & Rubber Comp.
- [54] US-Pat. 3 117 940 (1964), Mobay; US-Pat. 3 123 577 (1964), Mobay.
- [55] US-Pat. 3 404 103 (1968), Bridgestone Tire.
- [56] US-Pat. 3 441 616 (1969), Wyandotte.
- [57] DAS 1 595 321 (1972), Bridgestone Tire.
- [58] Business Week, 6. Mai 1972, S. 64.
- [59] Urethane Plast. Prod. 2, Nr. 6, S. 9 (1972).
- [60] US-Pat. 3 708 440 (1973); US-Pat. 3 738 946 (1973); DOS 2 304 444 (1973); DAS 2 238 109 (1975), alle Upjohn.
- [61] Plastec Rep. R 37 A, Aug. 1973.
- [62] DOS 2 207 379 (1973), Phoenix Gummi.
- [63] DOS 2 362 919 bis 2 362 921 (1974), Ford.
- [64] Dt. Pat.-Anm., interne Nummer LeA 15983 (1974), Bayer.
- [65] Polym. Plast. Technol. Eng. 3, Nr. 2, S. 215 (1974).
- [66] Environ. Sci. Technol. 8, Nr. 2, 135 (1974).
- [67] Plastics Focus 6, Nr. 37 (1974).
- [68] Chem. Eng. News 52, 4, Nov. 1974, S. 18.
- [69] Rubber & Plastics News, 18. Nov. 1974.
- [70] Plast. Eng., Dez. 1974, S. 16.
- [71] Can. Plast., Dez. 1974, S. 45.
- [72] Rubber Age, Juni 1975, S. 52.
- [73] Mod. Plast. Int. 5, Nr. 6, S. 14 (1975).
- [74] Kunststoff-Journal 5/75, S. 22–24.
- [75] Chem. Engl. 9, S. 46, Juni (1975).
- [76] Upjohn Report Nr. 9 (1975).
- [77] Polym. Age 6, Nr. 7/8, S. 215 (1975).
- [78] Jpn. Plast. 9, Nr. 2, 36 (1975).
- [79] DOS 2 414 091 (1975), Bayer AG.
- [80] DOS 2 516 863 (1975), Upjohn.

Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie

Von Shozo Shibata^[*]

Neue analytische Methoden (8)

Gegenwärtig ist die Doppelwellenlängen-Spektrometrie wahrscheinlich die am wenigsten bekannte Methode der Absorptions-Spektrophotometrie. Die neuesten Fortschritte in der Anwendungstechnik haben aber gezeigt, daß die Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie bei der Analyse mannigfaltiger organischer sowie anorganischer Stoffe hinsichtlich Empfindlichkeit und Selektivität der konventionellen Spektrophotometrie überlegen ist. Dieser Beitrag gibt eine Übersicht über die Prinzipien und Möglichkeiten der Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie – einschließlich Derivativ-Absorptionsspektrometrie – in der Hoffnung, daß diese Techniken in Zukunft öfter zur Lösung vieler analytischer Probleme benutzt werden.

1. Einführung

Im Jahre 1951 schlug Chance^[1, 2] eine neue Methode zur Messung trüber Proben in der biochemischen Analyse vor: die „Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie“. Seither erschienen auf diesem Spezialgebiet zahlreiche wichtige Veröffentlichungen über Arbeiten, die auf dieser Technik beruhen. Obwohl die Doppelwellenlängen-Methode in erster Linie zur raschen und präzisen Messung von kleinen Absorptionsveränderungen bei zwei festgelegten Wellenlängen in trüben Suspensionen verwendet wird, eignet sie sich auch zur Messung an klaren Lösungen. Bis zu unseren systematischen Untersuchungen^[3–12] war die neue Technik jedoch in der analytischen und auf anderen Gebieten der allgemeinen Chemie nicht sehr geläufig. Dies lag vielleicht hauptsächlich daran, daß man in Gedanken „Doppelwellenlänge“ mit „Doppelstrahl“ verwechselte und irrtümlich annahm, Doppelwellenlänge sei mit Absorptionsmessungen bei zwei Wellenlängen

verbunden und bedeute Konzentrationsbestimmung mit simultanen Gleichungen. Zu solchem Mißverständnis kam noch, daß viele Chemiker die eigentliche Bedeutung der differentiellen Absorption ΔA nicht begriffen. Der vorliegende Fortschrittsbericht über Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie, einschließlich der Differentialabsorptions-Spektrometrie (Derivativ-Spektrometrie), möge dazu beitragen, daß diese Technik in der Zukunft eher zur Lösung analytischer Probleme herangezogen wird.

2. Prinzip der Methode

Da die Doppelwellenlängen-Technik in der analytischen Chemie noch nicht zum Üblichen gehört, sei hier zunächst das Prinzip vorgestellt.

Bei der Doppelwellenlängen-Messung wird das von einer hochstabilisierten Wolframiodid- oder Deuteriumlampe ausgehende Licht in zwei Gittermonochromatoren in zwei Strahlen zerlegt. Die von den beiden Gittern kommenden Lichtstrahlen unterschiedlicher Wellenlänge erfahren durch einen rotierenden Sektor eine Zeitverschiebung und treten nach-

[*] Dr. S. Shibata
Government Industrial Research Institute
1-Chome, Hirate-machi, Kita-ku, 462 Nagoya (Japan)

einander durch die gleiche Zelle mit der Probelösung. Die Absorptionsdifferenz ΔA zwischen den Absorptionen bei den Wellenlängen λ_1 und λ_2 wird gemessen. Selbst eine sehr kleine Veränderung der Absorption einer Probe kann so bei voller Skala ausnutzung genau bestimmt werden.

Da bei der Doppelwellenlängen-Methode nur *eine* Meßzelle benutzt wird, können viele von den Zellen herührende Fehler wie Abweichungen in der Zellenposition oder Zellenkonstante und Unterschiede zwischen Probe- und Referenzlösung, z. B. in der Trübung und der Konzentration, vollkommen ausgeschaltet werden. Dadurch, daß die Probe selbst als Referenzlösung verwendet wird, reduzieren sich bei der Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie die durch Streuung, ungleiche Weglängen und ungleiche Reagenskonzentrationen hervorgerufenen Probleme auf ein Mindestmaß. In Abbildung 1 ist das Prinzip der Methode schematisch dargestellt.

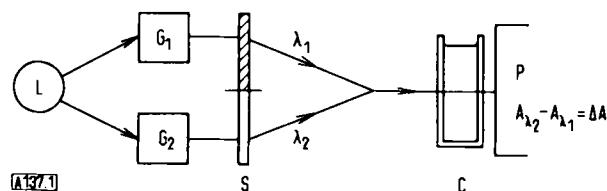


Abb. 1. Prinzip der Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie. L: Lichtquelle; G₁, G₂: Gitter; S: rotierender Sektor; C: Zelle; P: Photomultiplier.

Die Photosignale werden durch einen Photo-Sekundärelektronenvervielfacher (Multiplier) mit Stirnflächenkathode in elektrische Signale umgewandelt und über einen Vorverstärker zur Durchlaßschaltung geleitet. Dort verteilt ein mit Referenzsignalen synchronisierter Zerhacker alternierende Signale in der Reihenfolge λ_1 -Signal, Null-Signal, λ_2 -Signal, Null-Signal usw. auf die für die einzelnen Signale vorgesehenen Kanäle. Unerwünschte Einflüsse wie Schwankungen der Lichtquelle werden automatisch durch Kontrolle der am Photomultiplier liegenden Spannung mit Hilfe des Referenzsignals (λ_1 -Signal) eliminiert; der Unterschied zwischen angelegter Spannung und Referenzspannung bleibt konstant Null. Der Signalkreis korrigiert über eine Rückkopplung die Ausgangsinformation, so daß der Vorverstärker keinen Strom mehr liefert, wenn kein Photosignal eintrifft. Dadurch werden vom Dunkelstrom des Photomultipliers oder von Streulicht verursachte Störsignale vermieden. Das λ_2 -Signal ist das eigentliche Signal der zu untersuchenden Probe. Es wird entweder die Durchlässigkeit oder, nach logarithmischer Umformung, die Absorption linear aufgetragen. Die Ausschöpfung der elektrischen Techniken ermöglicht eine Verminderung des Rauschens auf das 0.0002fache der Absorption. Im Vergleich zu konventionellen Spektrophotometern ist dadurch die Absorptionsskala um das 100fache erweitert, und die Doppelwellenlängen-Methode eignet sich besonders zur Messung sehr kleiner Substanzmengen sowie zur Beobachtung des Verhaltens von Stoffen in Bereichen sehr geringen Absorptionsvermögens.

3. Hintergrund des Prinzips

Normalerweise wird bei der konventionellen Spektrophotometrie die Totalabsorption A der Probe bei einer Wellenlänge λ durch Vergleich mit der Referenzprobe gemessen, wie dies Abbildung 2 zeigt. Enthält jedoch die Probelösung noch einen anderen Untergrund, hervorgerufen durch Trübung oder sich

gegenseitig beeinflussende Komponenten, so ist die Bestimmung der gesuchten Komponente nicht mehr möglich.

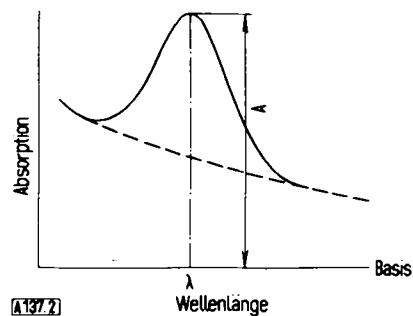


Abb. 2. Absorptionsmessung bei der konventionellen Spektrophotometrie.

Eigentlich ist die Messung der Totalabsorption für die quantitative Bestimmung irgendeiner Komponente oder chemischen Reaktion nicht notwendig. Daher wird bei der Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie die Absorptionsdifferenz ΔA zwischen zwei Wellenlängen λ_1 und λ_2 gemessen, wie in Abbildung 3 gezeigt, so daß keine Referenzlösung gebraucht wird. Die wichtigste notwendige Bedingung hierfür ist eine Linearität oder Proportionalität zwischen den gemessenen Signalen und der Konzentration der gesuchten Komponente. So lassen sich durch Auswahl einer geeigneten Kombination von zwei Wellenlängen viele Arten von Untergrundstörungen beseitigen.

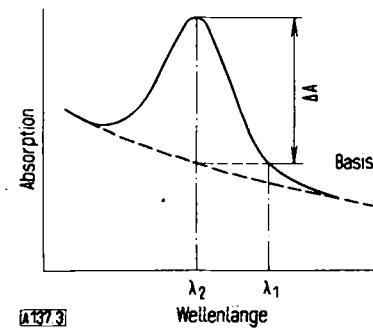


Abb. 3. Absorptionsmessung bei der Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie.

Bei kinetischen Experimenten zum Verlauf einer chemischen Reaktion wird gewöhnlich eine Wellenlänge, die nicht absorbiert wird, oder ein isosbestischer Punkt als „Referenzstrahl“ gewählt und eine andere Wellenlänge, die von der Probe stark absorbiert wird, als „Analysenstrahl“. Auf diese Weise kann mit der Doppelwellenlängen-Messung die von der Streuung oder irgendwelchen anderen Untergrundstörungen abhängende Pseudo-Absorption korrigiert werden, das heißt, die Pseudo-Absorption A_p wird mit λ_1 erfaßt, während mit λ_2 die Pseudo-Absorption und die echte (genuine) Absorption A_g erfaßt werden. Die Absorptionsdifferenz ΔA zwischen λ_1 und λ_2 läßt sich dann instrumentell ermitteln.

$$A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = \Delta A = (A_p + A_g) - A_p = A_g \quad (1)$$

Ganz allgemein bietet die Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie folgende besonderen Vorteile:

1. Im Falle einer Probe mit vergleichsweise starker Absorption und ausgeprägten Streuungseigenschaften können extrem kleine Veränderungen in der Absorption nachgewiesen wer-

den^[14]. Solche kleinen Veränderungen lassen sich nur durch Abgleichen der Absorptionswerte bei zwei verschiedenen Wellenlängen λ_1 und λ_2 erfassen. Somit entfallen die bei der konventionellen Spektrophotometrie oft zur Vorbereitung der Proben erforderlichen Verdünnungen und Filtrationen.

2. Exakte Messung einer Probe mit sehr schwacher Absorption ohne Referenzlösung. Gewöhnlich beträgt die Vollauschlagsabsorption 0.001 bis 0.010 oder 0.005 für den kleinsten Meßbereich.

3. Die gleichzeitige Bestimmung der Komponenten einer Mischung sowie auch die Maskierung von Komponenten sind sehr leicht möglich.

4. Durch Wellenlängen-Abtastung (Scanning) mit nahe beieinanderliegenden λ_1 - und λ_2 -Werten lassen sich Derivatspektren erzeugen, anhand derer viele Stoffe bestimmt werden können.

5. Wenn keine Referenzprobe verfügbar ist, kann durch Wellenlängen-Scanning mit festgehaltenem λ_1 ein spezielles relatives Spektrum oder ein echtes Absorptionsspektrum erhalten werden.

6. Die Kinetik gleichzeitig ablaufender Vorgänge in einer Probe lässt sich mit einem Zwei-Schreiber-Gerät bei λ_1 bzw. λ_2 aufzeichnen.

7. Alle Instrumente sind sowohl für die Doppelwellenlängen- als auch für die konventionelle Doppelstrahlmethode verwendbar.

4. Chemische Reaktionen in trüber Lösung

Abbildung 4 zeigt die Absorptionsspektren der oxidierten und der reduzierten Form von Cytochrom c. In diesem Beispiel wurde der als Referenzwellenlänge gewählte isosbestische Punkt mit λ_1 bezeichnet. Bei der zur Absorptionsmessung verwendeten Wellenlänge λ_2 liegt das Absorptionsmaximum der reduzierten Form. Zwar sind noch drei andere isosbestische Punkte vorhanden, doch sollte man – um ähnliche Streuungsverhältnisse zu garantieren – dem λ_2 am nächsten liegenden isosbestischen Punkt den Vorzug geben; denn wie von der Rayleigh-Streuung bekannt, hängt die Streuung von der Wellenlänge ab. Auf diese Weise lässt sich das Fortschreiten der Reduktion der Probe mit der Zeit verfolgen. Für die Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie sind auch Änderungen der Partikelgröße infolge Quellung oder Alterung ohne Bedeutung; somit ist diese Methode besonders zur Untersuchung von Mitochondrien-Suspensionen geeignet. Im allgemeinen arbeitet der optische Unterbrecher von kommerziell erhält-

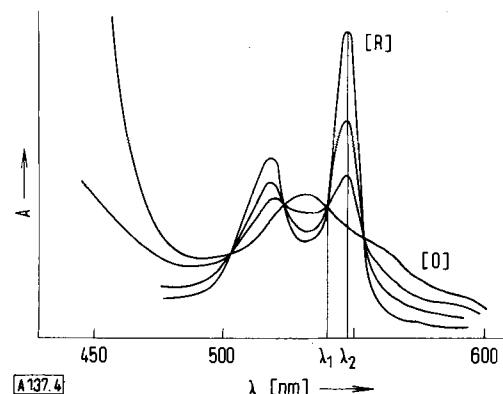


Abbildung 4. Absorptionsspektren von oxidiertem [O] und reduziertem [R] Cytochrom c.

lichen Doppelwellenlängen-Spektrophotometern bei 600 bis 1000 Hz. Daher sind auch Messungen schneller chemischer Reaktionen möglich. Abbildung 5 zeigt dies am Beispiel der photochemischen Redoxreaktion von Cytochrom f.

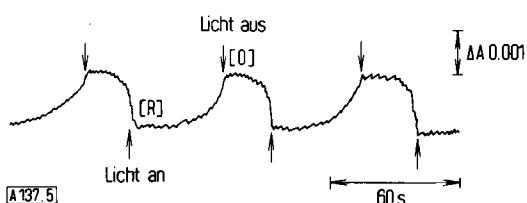


Abbildung 5. Photooxidation von Cytochrom f.

5. Analyse von Mischungen

Durch Anwendung der Doppelwellenlängen-Messung können Mehrkomponentensysteme sehr leicht direkt und genau ohne Berechnungen simultan analysiert werden; andererseits kann man auch die verschiedenen Komponenten maskieren.

5.1. Äquiabsorptionsmethode

Nehmen wir an, eine Zweikomponentenprobe enthalte x und y. Die gemessenen Absorptionen bei jeder Wellenlänge λ_1 und λ_2 sind

$$A_{\lambda_1} = \varepsilon_x c_x + \varepsilon_y c_y \quad (2)$$

$$A_{\lambda_2} = \varepsilon'_x c_x + \varepsilon'_y c_y \quad (3)$$

ε_x und ε_y bedeuten das molare Absorptionsvermögen der x- bzw. y-Komponente bei λ_1 ; ε'_x und ε'_y sind die molaren Absorptionsvermögen der beiden Komponenten bei λ_2 ; c_x und c_y sind die Konzentrationen (mol/l) der Komponenten.

Somit erhält man bei der Doppelwellenlängen-Messung die Absorption

$$A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = \Delta A = (\varepsilon'_x c_x + \varepsilon'_y c_y) - (\varepsilon_x c_x + \varepsilon_y c_y) \quad (4)$$

Wenn die Zweitkomponente y bei den beiden Wellenlängen λ_1 und λ_2 die gleiche Absorption aufweist, d.h. wenn $A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = 0$ ist, so vereinfacht sich Gleichung (4) zu

$$\Delta A = \varepsilon'_x c_x - \varepsilon_x c_x \quad (5)$$

Da die Differenzabsorption ΔA nun nicht mehr von der Konzentration der Komponente y abhängt, ist es möglich, den von verschiedenen Komponenten y herrührenden Einfluss zu eliminieren.

5.1.1. Vorauswahl der ungefähren Werte für λ_1 und λ_2

Hierzu fertigt man entweder Diagramme an oder man untersucht die einzelnen Komponenten nacheinander durch Wellenlängen-Scanning mit einer fixierten Wellenlänge.

Abbildung 6 zeigt die Absorptionsspektren von Arsenazo I (3-[2-aronophenyl]azo]-4,5-dihydroxy-2,7-naphthalindisulfonsäure) und Arsenazo III (3,6-bis[2-aronophenyl]azo]-4,5-dihydroxy-2,7-naphthalindisulfonsäure) in wässriger Lösung bei pH = 2.0. Im allgemeinen sind Synthese und Reinigung von Bisazo-Verbindungen sehr schwierig, weil bei den Bildungsreaktionen stets auch die entsprechende Monoazo-Verbindung entsteht. Deshalb muß die Reinheit ständig kontrol-

liert werden. Wählt man zum Beispiel als Analysenwellenlänge λ_2 diejenige mit der maximalen Absorption für Arsenazo I bei 502 nm, so verfährt man in der Weise, daß zunächst eine vertikale Linie von diesem Maximum zur x-Achse gezogen wird. Von ihrem Schnittpunkt im Absorptionsspektrum von Arsenazo III führt eine zur x-Achse horizontale Linie zu einem anderen Absorptionspunkt bei λ_1 .

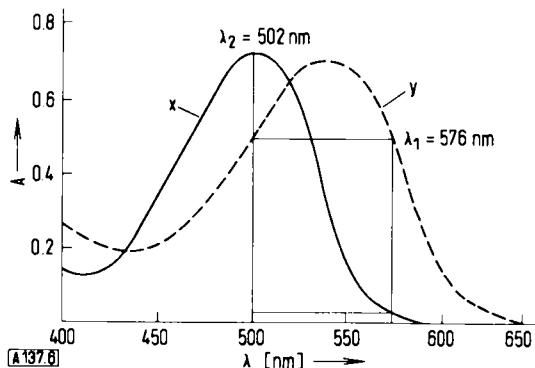


Abb. 6. Zur Auswahl von λ_1 und λ_2 nach dem Diagramm-Verfahren. pH = 2.0; 2.0 mg/100 ml von jeder Komponente Arsenazo I (x) und Arsenazo III (y).

Bei der Kombination λ_1, λ_2 bleibt die Basislinie bei Veränderung der Konzentration von Arsenazo III konstant, d. h. $A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = \Delta A = 0$. Demnach haben Konzentrationsänderungen von Arsenazo III keinen Einfluß auf die Bestimmung von Arsenazo I, es sei denn, die gelösten Teilchen veränderten sich infolge Polymerisation. Natürlich sollte der ΔA -Wert für Arsenazo I bei der gewählten Kombination von λ_1 und λ_2 für die Messung genügend groß sein. Für das in Abbildung 6 gezeigte System würde man die Kombination 502-576 nm wählen. Allgemein richtet sich die Auswahl der Kombination von λ_1 und λ_2 nach der Form jedes einzelnen Spektrums. Kann die Wellenlänge mit der maximalen Absorption nicht als Analysenwellenlänge verwendet werden, so nimmt man eine andere geeignete Wellenlänge im Absorptionsspektrum.

Bei der soeben skizzierten Verfahrensweise wurden λ_1 und λ_2 aus einer einzigen Konzentration von Arsenazo III bestimmt. Benutzt man dazu mehrere Proben mit verschiedenen Konzentrationen, so lassen sich auch Veränderungen der löslichen Teilchen, die durch Polymerisation, Dissoziation sowie andere chemische oder physikalische Effekte verursacht werden, leicht aus der Form des Spektrums erkennen. Am Anfang muß man aus dem normalen Absorptionsspektrum von Arsenazo I eine Analysenwellenlänge auswählen; wie vorhin bietet sich das Maximum bei 502 nm an. Dann wird die fixierte Wellenlänge λ_2 bei 502 nm eingestellt und mit λ_1 als Scanning-Wellenlänge das Absorptionsspektrum bei verschiedenen Konzentrationen von Arsenazo III aufgenommen. Falls die gelösten Spezies unverändert bleiben, ist auf der Basislinie ein isosbestischer Punkt zu erkennen, d. h. die differentielle Absorption ΔA zwischen 502 nm und diesem Punkt ist Null. Auf diesem Weg erhaltene Spektren von Arsenazo III zeigt Abbildung 7.

5.1.2. Präzisionsverfahren zur Auswahl optimaler Wellenlängen

Hierbei mißt man 5- oder 6mal in der Nähe der vorläufigen Wellenlängeneinstellungen die Änderungen der differentiellen Absorption als Funktion einer Konzentrationsveränderung, in unserem Beispiel von Arsenazo III, so daß man schließlich zu Wellenlängen λ_1 und λ_2 gelangt, bei denen sich die Diffe-

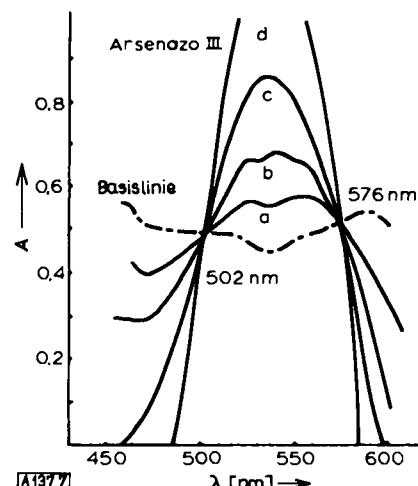


Abb. 7. Auswahl von λ_1 und λ_2 aus Absorptionsspektren mit fixiertem λ_2 (502.0 nm) und λ_1 als kontinuierlich veränderlicher Wellenlänge. Arsenazo III (mg/100 ml): a) 1.0, b) 2.0, c) 4.0, d) 8.0.

renzabsorption nur noch minimal ändert. Am besten geht man zuerst mit der Wellenlänge λ_1 um ungefähr 1 nm hinauf oder hinunter und beobachtet dabei Richtung und Ausmaß der Änderung von ΔA . In der Folge werden beide Wellenlängen nacheinander so abgeglichen, daß ΔA auch bei Konzentrationsveränderungen von Arsenazo III Null wird. Abbildung 8 illustriert dieses Auswahlverfahren für λ_1 und λ_2 .

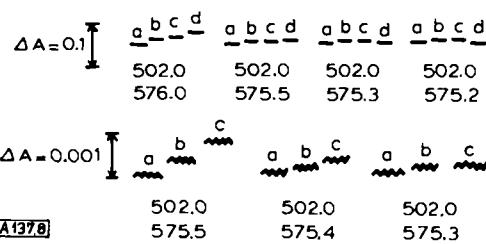


Abb. 8. Präzisionsverfahren zur Auswahl von λ_1 und λ_2 . Arsenazo III (mg/ml): a) 0.25, b) 0.50, c) 1.00, d) 2.00.

In einem Skalenbereich von 0.1 Absorptionseinheiten ist das Verfahren wenig problematisch; aber wenn der volle Skalenbereich 0.01 Absorptionseinheiten beträgt, ist Vorsicht geboten. Auf diesem Wege findet man als geeignete Kombination von λ_1 und λ_2 zur Bestimmung von Arsenazo I in Gegenwart von Arsenazo III bei pH=2 die Wellenlängen 502.0 und 575.3 nm. Die optimale Auswahl von λ_1 und λ_2 für die Bestimmung von Arsenazo III kann auf ähnliche Weise getroffen werden. Die Methode ermöglicht die einfache und genaue Bestimmung von ungefähr 0.5 % Arsenazo I in Arsenazo III^[7].

5.2. Signalverstärkungsmethode

Unterscheiden sich allerdings die Absorptionen der Zweitkomponente y bei jeder Kombination zweier Wellenlängen voneinander, wie in Abbildung 9 gezeigt, dann wird der Signalverstärker im Apparat so eingestellt, daß die Zweitkomponente bei den Wellenlängen λ_1 und λ_2 nunmehr doch die gleiche Absorption aufweist, z. B.

$$\varepsilon_y c_y = k \varepsilon'_y c_y \quad (6)$$

Daraus folgt

$$A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = \Delta A = k(\varepsilon'_x c_x + \varepsilon'_y c_y) - (\varepsilon_x c_x + \varepsilon_y c_y) = k \varepsilon'_x c_x - \varepsilon_x c_x \quad (7)$$

Da in Gleichung (7) die Differenzabsorption ΔA unabhängig von der Konzentration der Komponente y ist, lässt sich die Komponente x in der Mischung quantitativ bestimmen. Bei dieser Technik werden zwei Signale für λ_1 und λ_2 logarithmisch zu den Absorptionswerten umgewandelt und unabhängig voneinander mit Hilfe des Funktionsgebers verstärkt. Daher entspricht die mit dieser Messung erhältliche Differenzabsorption

$$\Delta A = k_2 A_{\lambda_2} - k_1 A_{\lambda_1} \quad (8)$$

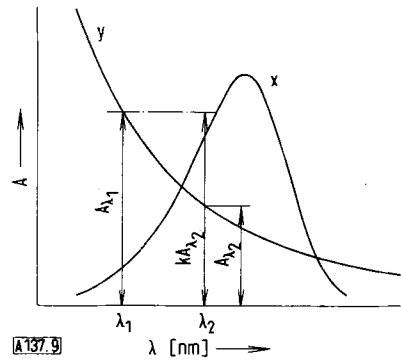


Abb. 9. Prinzip der Signalverstärkungsmethode.

5.2.1. Bestimmung von Dreikomponentenmischungen^[24]

Wenn an den Schnittpunkten der Absorptionskurven von zwei Komponenten y und z zwei Wellenlängen λ_1 und λ_2 wählbar sind, so kann die Komponente x in der Mischung auf folgende Weise bestimmt werden:

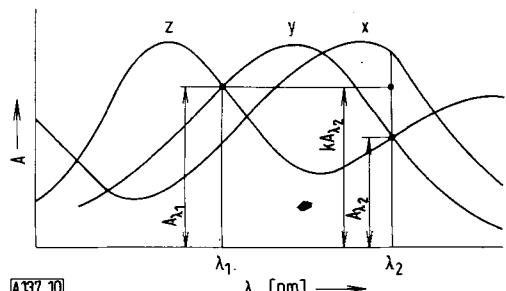


Abb. 10. Analyse von Dreikomponentenmischungen.

Wie in Abbildung 10 gezeigt, wird mit dem Funktionsgeber die Absorption bei λ_2 auf den gleichen Wert eingestellt wie bei λ_1 . Dann gilt

$$\varepsilon_y c_y = \varepsilon_z c_z = k \varepsilon'_y c_y = k \varepsilon'_z c_z \quad (9)$$

und daraus folgt

$$A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = \Delta A = k \varepsilon'_x c_x - \varepsilon_x c_x \quad (10)$$

Unter den praktischen Beispielen für eine erfolgreiche Anwendung der Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie auf Mehrkomponentensysteme findet man die Isomere der Phthaläsure, Mischungen von Lebensmittelfarbstoffen, L-Fucose im Serum, die Vitamine A und E, Polystyrol in Durol^[22], Ephedrin in Alkaloiden, Amylose^[15], Trimellitsäure und ihr Anhydrid (Abb. 11), Salicylsäure und 3- sowie 5-Nitrosalicylsäure^[21] und isomere Guajacolsulfonate in pharmazeutischen Zubereitungen^[13].

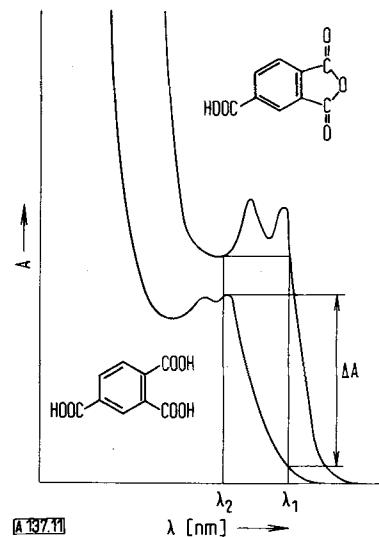


Abb. 11. Bestimmung von Trimellitsäure in Gegenwart ihres Anhydrids. $\lambda_1 = 307.6 \text{ nm}$, $\lambda_2 = 290 \text{ nm}$.

6. Hochempfindliche Analyse anorganischer Substanzen

Man kennt heute zahlreiche hochempfindliche chromogene Reagentien für Metalle (Komplexbildner) mit molaren Absorptionsvermögen der Größenordnung 10^5 . Die Kombination solcher Reagentien mit der Doppelwellenlängen-Technik ergibt eine hervorragende kolorimetrische Methode.

6.1. Bestimmung von Cobalt in ppb-Mengen mit 4-[3,5-Dichlor-2-pyridyl]azo]-m-phenylenediamin^[6, 10]

Nach der konventionellen Methode misst man die Totalabsorption der Probe bei der Wellenlänge maximaler Absorption des Cobalt-Diamin-Komplexes relativ zu Wasser oder einer Blindprobe. Bei Doppelwellenlängen-Messungen wird λ_2 auf die dem Absorptionsmaximum des Komplexes entsprechende Wellenlänge eingestellt und λ_1 auf die Wellenlänge, die zum Absorptionsmaximum des Reagens gehört. So kommt zu der Absorptionsveränderung infolge der Chelatbildung noch die durch die Komplexbildung verursachte Abnahme der Reagensabsorption hinzu. Das scheinbare Absorptionsvermögen des Cobaltchelats wird dadurch beträchtlich erhöht (siehe Abb. 12). Bei Anwendung dieser Methode verläuft z. B. die Eichkurve für 1–5 ppb Cobalt linear durch den Ursprung; ihre Steigung entspricht einem Wert für $\Delta A_{570-424 \text{ nm}}$ von 0.0028 pro ppb Co.

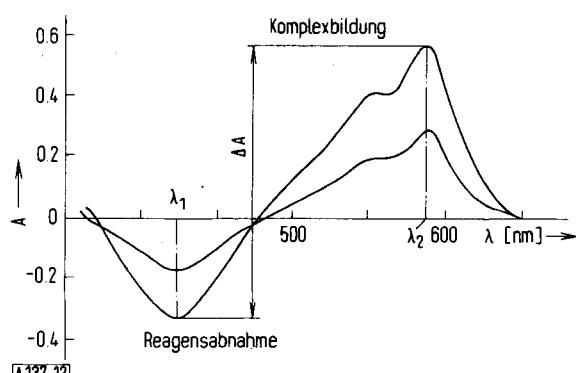


Abb. 12. Differenzabsorptionsspektren von 4-[3,5-Dichlor-2-pyridyl]azo]-m-phenylenediamin-cobalt.

$$\Delta A = A_{\lambda_2} - (-A_{\lambda_1}) = A_{\lambda_2} + A_{\lambda_1}.$$

Nach der Doppelwellenlängen-Methode erhöht sich das scheinbare molare Absorptionsvermögen des Cobalt-4-[*(5-Chlor-2-pyridyl)azo*]-*m*-phenylenediamin-Komplexes („5-Cl-PADAB“, Fa. Merck) von $1.13 \cdot 10^5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ auf $1.75 \cdot 10^5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Im allgemeinen ist man in der Wahl der Kombination der zwei Wellenlängen frei (vgl. Abb. 13).

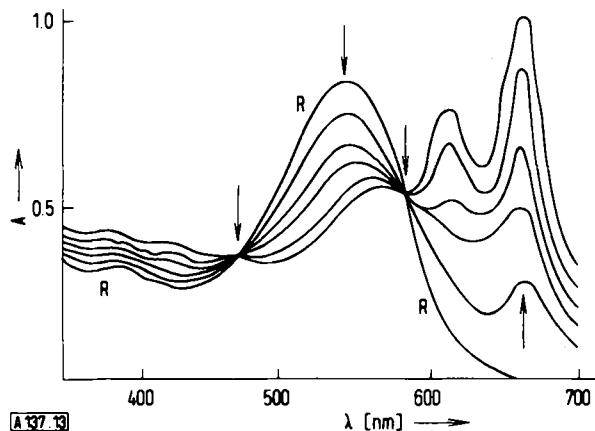


Abb. 13. Absorptionsspektren des Thorium-Arsenazo III-Komplexes; 8 N HCl-Lösung. R = Arsenazo III.

6.2. Bestimmung von Quecksilber in ppb-Mengen mit Dithizon in wäßriger Lösung^[27]

Dithizon kann in einer wäßrigen Lösung von Triton X 100 aufgelöst werden, so daß sich damit Spuren von Quecksilber in einer wäßrigen Lösung ohne Solvensextraktion bestimmen lassen. Dabei werden durch Anwendung der Äquiansorptionsmethode (vgl. Abb. 14) große Mengen an Dithizon vermieden. Das Dithizon sollte bei diesem Verfahren durch Zugabe von Wasserstoffperoxid in stabilere oxidierte gelbe Spezies übergeführt werden.

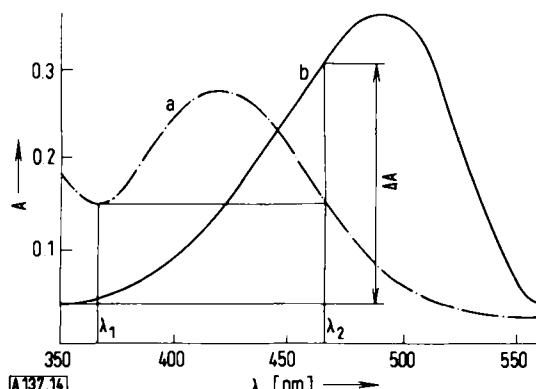


Abb. 14. Bestimmung von Quecksilber mit Dithizon. $\lambda_1 = 368 \text{ nm}$, $\lambda_2 = 468 \text{ nm}$. a: Dithizon, b: Quecksilberdithizonat.

Die Nachweisgrenze der Methode liegt bei 1.8 ppb Quecksilber, und die Eichkurve wird oberhalb von etwa 40 ppb linear.

7. Derivativ-Absorptionsspektrometrie

Giese und French^[20] sowie Saide^[19] wiesen schon früh auf die Vorteile der direkten Aufzeichnung einer Kurve des ersten oder zweiten Differentialkoeffizienten der Absorption A oder der Transmission T bezüglich der Wellenlänge λ , d. h. $dA/d\lambda$ bzw. $d^2A/d\lambda^2$, als Funktion der Wellenlänge hin. Das

Spektrum erster Ableitung kann mit einem konventionellen Doppelstrahlapparat und einem Zusatzgerät oder mit einem speziellen Derivativ-Spektrophotometer aufgenommen werden, jedoch sind diese Techniken ziemlich kompliziert. Solche Spektren lassen sich aber einfach durch Doppelwellenlängen-Messungen aufnehmen, wenn die beiden Wellenlängen λ_1 und λ_2 sehr nahe beieinanderliegen (gewöhnlich 1–2 nm) und das Scanning simultan durchgeführt wird. Ein weiterer Vorteil ist darin zu sehen, daß diese Differentialspektren auch elektrisch registriert werden können.

Die direkte Aufzeichnung einer Kurve des ersten oder zweiten Differentialkoeffizienten der Absorption oder Transmission besitzt folgende Vorteile:

1. Selbst bei vollständiger oder nahezu vollständiger Überlappung von zwei oder mehr Absorptionsbanden kann noch jede einzelne Bande entdeckt werden.
2. Sehr kleine, an einer steilen Flanke einer Absorptionskurve liegende Banden und irgendwelche Schultern in der Absorptionskurve werden eindeutig aufgelöst.
3. Sehr breite Absorptionsbanden sind genau lokalisierbar.
4. Im allgemeinen ist der Differentialkoeffizient bei einer bestimmten Wellenlänge linear mit der Konzentration der entsprechenden Komponente verknüpft und ermöglicht so deren Bestimmung.

5. Schwankungen in der Trübung oder des Untergrunds, die durch Wechselwirkungen zwischen den Komponenten zustandekommen, beeinflussen die Messungen nicht, da man nahe beieinanderliegende Wellenlängen λ_1 und λ_2 benutzt.

Es erscheint daher einleuchtend, daß die Derivativ-Spektrophotometrie die Erfassung und Bestimmung beispielsweise von Verunreinigungen in Arzneimitteln und Chemikalien, von Lebensmittelzusätzen ebenso wie von Industrieabfällen erleichtert. Über die chemische Analyse hinaus ist diese Methode auch zur Bestimmung der Feinstruktur vieler organischer Verbindungen sehr nützlich^[26].

Abbildung 15 zeigt, daß das Absorptionsspektrum von Phenol in industriellem Abfall durch den Einfluß von Trübstoffen beträchtlich erhöht wird, was eine genaue Phenolanalyse in der trüben Lösung mit der konventionellen Spektrophotometrie schwierig macht. Spektren erster Ableitung von Phenol in industriellem Abfall sind in Abbildung 16 wiedergegeben. Man sieht, daß der Abstand zwischen dem Maximum und dem Minimum des Differentialkoeffizienten der Absorp-

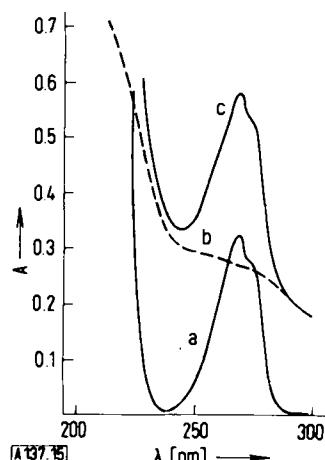


Abb. 15. Absorptionsspektren von Phenol. a) Phenol in wäßriger Lösung; b) trübes, phenolfreies Industrieabwasser; c) Phenol in trübem Industrieabwasser.

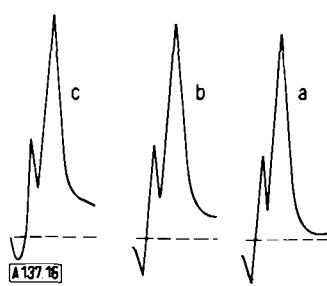


Abb. 16. Derivativ-Absorptionsspektren erster Ordnung von Phenol bei verschiedenen Konzentrationen von Trübstoffen. Trübung: a < b < c.

ten anhand normaler Absorptionsspektren nicht unterscheiden lassen, sind in den Derivativ-Absorptionsspektren eindeutig zwei Komponenten auszumachen, nämlich 2,4-Dichlorphenol und 2,4,6-Trichlorphenol. Abbildung 18 enthält die Spektren zweiter Ableitung von zwei Lebensmittelzusätzen. Die Einflüsse von Neu-Coccin (C.I. 16255) auf das Spektrum von Phloxin (C.I. 45410) sind nahezu vollständig eliminiert worden.

Williams und Hager^[25] berichteten über ein Derivativ-Spektrophotometer zweiter Ordnung, das zur Ermittlung von sehr kleinen Konzentrationen bestimmter Gase in üblichen Luftverunreinigungen – z.B. Ammoniak, Schwefeldioxid,

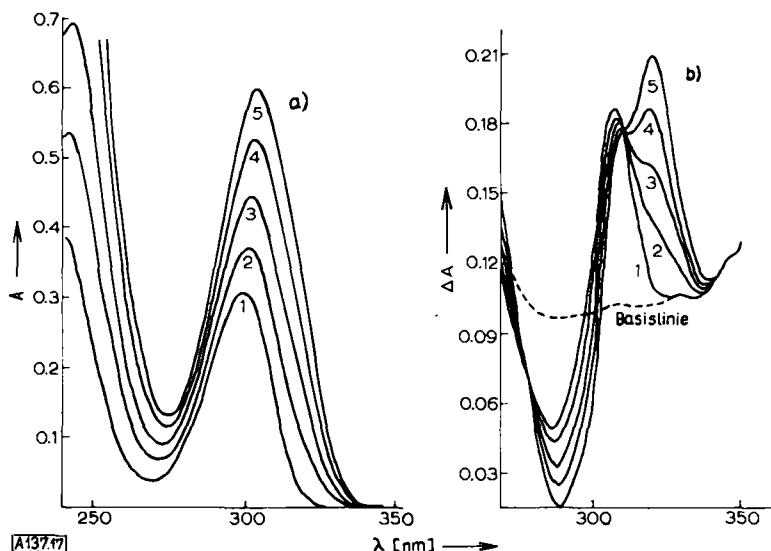


Abb. 17. Analyse von Phenolgemischen. a) Absorptionsspektren; b) Derivativ-Absorptionsspektren ($\Delta\lambda = 2 \text{ nm}$, $S = 0.25 \text{ mm}$). 1: 2,4-Dichlorphenol, 10 ppm; 2: (1) plus 5 ppm 2,4,6-Trichlorphenol (TCP); 3: (1) plus 10 ppm TCP; 4: (1) plus 15 ppm TCP; 5: (1) plus 20 ppm TCP.

tionsbande von Phenol konstant ist, das bedeutet, daß der unter der interessierenden Absorptionsbande liegende Untergrund beseitigt wurde^[11].

Abbildung 17 zeigt die qualitative und quantitative Bestimmung eines Phenolgemisches^[8]. Während sich die Komponen-

Stickstoffmonoxid und -dioxid, Ozon und Kohlenmonoxid – eingesetzt wird.

8. Densitometrie mittels Doppelwellenlängen-Messung^[17, 23]

Die charakteristischen Eigenschaften der Doppelwellenlängen-Spektrophotometer lassen sich auch in der Weise verwerten, daß man die vom Untergrund herrührende Störung zur Bestimmung der optischen Dichte mit Hilfe zweier ausgewählter Wellenlängen benutzt. Diese Technik hat den Vorteil, daß sowohl die Analysen- als auch die Referenzwellenlänge genau den gleichen Teil beispielsweise eines Chromatogramms durchlaufen^[18] und so Artefakte, die auf Unterschiede im Substrat zurückzuführen sind, annulliert werden.

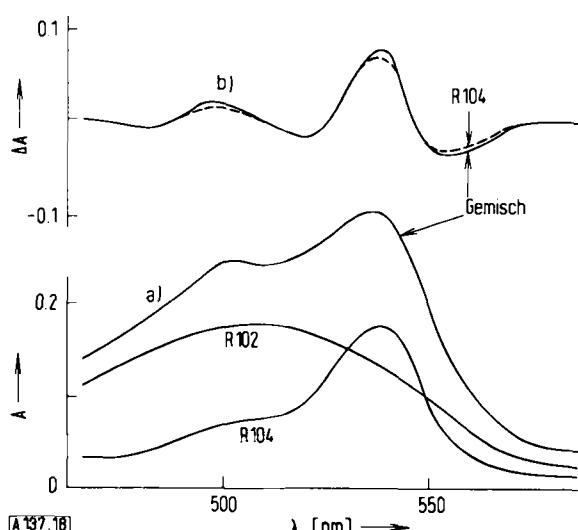


Abb. 18. Derivativ-Absorptionsspektren zweiter Ordnung von Lebensmittel-farbstoff-Gemischen. a) Absorptionsspektren, R 102 (Neu-Coccin, C.I. 16255) und R 104 (Phloxin, C.I. 45410); b) Differentialspektren zweiter Ordnung.

9. Simultanbeobachtung zweier Phänomene

Will man zwei Parameter, die sich während einer Reaktion verändern, bei beliebigen Wellenlängen λ_1 und λ_2 gleichzeitig verfolgen, so kann bei Verwendung der Doppelwellenlängen-Methode die kinetische Messung mit nur einer Kuvette und einem Gerät mit zwei Schreibern unter identischen Bedingungen durchgeführt werden.

10. Zusammenfassung

Viele andere Anwendungen der Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie sind zu erwarten, z.B. bei der Titration von Kolloiden, photometrischen Titration in trüber Lösung, Kapillar-Spektrophotometrie^[12], Ermittlung von Komplexbildungskonstanten durch Ligandenaustausch-Reaktionen sowie der Untersuchung von katalytischen, Fluoreszenz- oder photochemischen Reaktionen. Gegenwärtig ist sie nicht nur in der analytischen Chemie von Nutzen, sondern auch bei der Prozeßkontrolle in der industriellen Chemie. Beispielsweise hat sich diese Methode schon zur Qualitätskontrolle von Tinten, Thermopapieren, photochromen Materialien^[16], pharmazeutischen Produkten und industriellem Abfall bewährt.

Im allgemeinen erweist sich die Anwendung der Doppelwellenlängen-Technik als sehr einfach, doch werden die Messungen an einigen chemischen Reaktionen bei geringen Absorptionsen erheblich von der Temperatur beeinflußt. Daher ist eine Temperaturkontrolle im Küvettenteil ratsam.

Auf dem Gebiet der allgemeinen analytischen Spektrophotometrie übertrifft die Doppelwellenlängen-Spektrophotometrie die konventionellen UV/VIS-Techniken bei weitem, indem sie deren Selektivitäts- und Empfindlichkeitsgrenzen überwindet. Die folgende Literaturzusammenstellung ist repräsentativ, nicht umfassend. Ein vollständigeres Verzeichnis ist von unserem Laboratorium erhältlich.

ZUSCHRIFTEN

Zuschriften sind kurze vorläufige Berichte über Forschungsergebnisse aus allen Gebieten der Chemie. Vom Inhalt der Arbeiten muß zu erwarten sein, daß er aufgrund seiner Bedeutung, Neuartigkeit oder weiten Anwendbarkeit bei sehr vielen Chemikern allgemeine Beachtung finden wird. Autoren von Zuschriften werden gebeten, bei Einsendung ihrer Manuskripte der Redaktion mitzuteilen, welche Gründe in diesem Sinne für eine vor dringliche Veröffentlichung sprechen. Die gleichen Gründe sollen im Manuskript deutlich zum Ausdruck kommen. Manuskripte, von denen sich bei eingehender Beratung in der Redaktion und mit auswärtigen Gutachtern herausstellt, daß sie diesen Voraussetzungen nicht entsprechen, werden den Autoren mit der Bitte zurückgesandt, sie in einer Spezialzeitschrift erscheinen zu lassen, die sich direkt an den Fachmann des behandelten Gebietes wendet.

Das Thionitrosylkation NS^+ als Synthesereagens^[**]

Von Rüdiger Mews^[*]

Professor Oskar Glemser zum 65. Geburtstag gewidmet

Durch Umsetzung von Thiazylfluorid NSF mit Lewis-Säuren MF_5 ($\text{M} = \text{As}, \text{Sb}$) erhielten Glemser und Koch^[11] die Thio-

[*] Dr. R. Mews

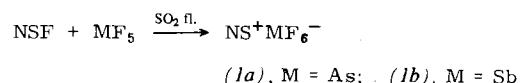
Anorganisch-chemisches Institut der Universität
Tammannstraße 4, D-3400 Göttingen

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.

Eingegangen am 22. Juni 1976 [A 137]
Übersetzt von Dr. Peter Puster, Ludwigshafen

- [1] B. Chance, Rev. Sci. Instrum. 22, 634 (1951).
- [2] B. Chance, Science 120, 767 (1954).
- [3] S. Shibata, M. Furukawa u. K. Goto, Anal. Chim. Acta 46, 271 (1969).
- [4] S. Shibata u. M. Furukawa, Kagaku To Kogyo (Tokyo) 23, 668 (1970).
- [5] S. Shibata, M. Furukawa u. K. Goto, Anal. Chim. Acta 53, 369 (1971).
- [6] S. Shibata, M. Furukawa u. K. Goto, XVI. Colloquium Spectroscopicum Internationale, Heidelberg 1971, Prepr. Vol. I, S. 114.
- [7] S. Shibata, K. Goto u. Y. Ishiguro, Anal. Chim. Acta 62, 305 (1972).
- [8] S. Shibata, M. Furukawa u. K. Goto, Anal. Chim. Acta 65, 49 (1973).
- [9] S. Shibata u. M. Furukawa, Bunseki Kagaku 23, 1545 (1974).
- [10] S. Shibata, M. Furukawa u. T. Honkawa, Anal. Chim. Acta 78, 487 (1975).
- [11] S. Shibata, M. Furukawa u. R. Nakashima, Anal. Chim. Acta 81, 206 (1976).
- [12] S. Shibata, M. Furukawa u. Y. Ishiguro, 24th Annu. Meet. Jpn. Soc. Anal. Chem., Prepr. S. 104 (1975).
- [13] T. Inoue, M. Tatsuzawa, Mei-Shen Lo u. Y. Tanaka, Bunseki Kagaku 23, 1289 (1974).
- [14] T. Kato, H. Kuzuya u. T. Nagatsu, Biochem. Med. 10, 320 (1974).
- [15] M. Sanyal, V. Sitakara Rao u. K. B. De, Z. Anal. Chem. 271, 208 (1974).
- [16] J. Porro, Anal. Chem. 44, 93 A (1972).
- [17] Y. Morita, K. Ogure u. A. Nomura, Bunseki Kagaku 22, 1147 (1973).
- [18] H. Yamamoto, T. Kurita, J. Suzuki, M. Taira u. H. Makabe, Bunseki Kagaku 23, 133 (1974).
- [19] L. J. Saidel, Arch. Biochem. Biophys. 54, 185 (1955).
- [20] A. T. Giese u. C. S. French, Appl. Spectrosc. 9, 78 (1955).
- [21] T. Yoneda u. Y. Morita, Bunseki Kagaku 22, 1028 (1973).
- [22] S. Maeda, H. Kobayashi u. K. Ueno, Bunseki Kagaku 22, 1365 (1973).
- [23] T. Honkawa, Anal. Lett. 7, 575 (1974).
- [24] T. Honkawa, Anal. Lett. 8, 901 (1975).
- [25] D. T. Williams u. R. N. Hager Jr., Appl. Opt. 9, 1597 (1970).
- [26] E. C. Olson u. C. D. Alway, Anal. Chem. 32, 370 (1960).
- [27] T. Togo, I. Yoshida, H. Kobayashi u. K. Ueno, 37th Symp. Anal. Chem. (Jpn. Soc. Anal. Chem.), Prepr. S. 97 (1976).

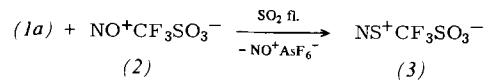
nitrosylverbindungen („Thiazylsalze“) $\text{NS}^+ \text{MF}_6^-$ (1). Für präparative Zwecke lassen sich diese Salze am besten in flüssigem Schwefeldioxid darstellen; die Reinigung von (1a) gelingt durch Sublimation im Ölumpenvakuum (40°C), von (1b) durch Erhitzen auf 100°C und Umkristallisation des Rückstandes aus $\text{SO}_2/\text{SO}_2\text{ClF}$ ^[2].



Das Kation in (1) wird leicht von Anionen oder Nucleophilen angegriffen. Ohne Reaktionspartner in trockenen Glasgefäßen sind die Salze (1) unbegrenzt stabil.

Drei Reaktionsmöglichkeiten sind bisher von uns untersucht worden:

1. Umsetzung des Thionitrosylkations mit Anionen:



Das farblose Produkt (3), $\text{Fp} = 120^\circ\text{C}$, ist extrem hydrolyseempfindlich. Aus dem Vergleich der Raman-Spektren von (2) und (3) schließen wir auf die ionische Struktur des Festkörpers ($\nu\text{SN} 1443 \text{ cm}^{-1}$). Die gute Sublimierbarkeit von (3) zeigt, daß die Verbindung zumindest in der Gasphase als Monomer vorliegt.

2. Umsetzung des Thionitrosylkations mit Nucleophilen^[3]:

