

Praktikum Analytische Chemie
(4. Semester)

Assistenten:

Phillip Kuhn

HCI H-325; Tel. (044 63)22914

phillip.kuhn@org.chem.ethz.ch

Roman M. Balabin

HCI D-333; Tel. (044 63)24783

balabin@org.chem.ethz.ch

Johannes Stadler

HCI D-325; Tel. (044 63)34158

stadler@org.chem.ethz.ch

Polarographie

1	Einführung ins Praktikum.....	3
2	Praktikumsbericht.....	3
3	Einleitung	4
4	Theoretische Grundlagen [1, 2, 3, 4].....	4
4.1	Nernst'sche Gleichung und Diffusionsstrom	4
4.2	DME (dropping mercury electrode).....	7
4.3	Aufbau der Messzelle	7
4.4	Messbereich und Störungen	9
4.5	Messmethoden.....	10
4.5.1	Methoden "rapid" versus "normal"	11
4.5.2	Gleichstrompolarographie (DCP).....	12
4.5.3	Wechselstrompolarographie (ACP).....	13
4.5.4	Pulspolarographie (NPP, DPP).....	14
4.5.5	Inversvoltammetrie [7]	14
5	Versuchsanleitungen.....	16
5.1	Allgemeines.....	16
5.1.1	Einschalten der Geräte.....	16
5.1.2	Ausschalten der Geräte.....	16
5.1.3	Entsorgung.....	17
5.1.4	Berechnung der Resultate.....	17
5.2	Vitamin C-Gehalt Bestimmung in Fruchtsäften.....	17
5.2.1	Lösungen	18
5.2.2	Bestimmung mittels Kalibration.....	18
5.2.3	Bestimmung mittels Standardaddition	20
5.3	Cu und Zn Gehalt-Bestimmung in Trinkwasser.....	20
5.3.1	Lösungen	21
5.3.2	Bestimmung mittels Standardaddition	21
6	Geplante Messungen:	22
7	Literaturverzeichnis.....	23

1 Einführung ins Praktikum

Vor der mündlichen Einführung ins Praktikum sollte diese Praktikumsanleitung vollständig gelesen werden. Für eine Repetition der allgemeinen Begriffe der Elektrochemie (elektrochemische Zelle, Nernst'sche Gleichung, Oxidation, Reduktion etc.) wird die Lektüre des ersten Kapitels aus [1] empfohlen. Es enthält eine einfache und übersichtliche Einführung in dieses Gebiet.

Nach dem Lesen des theoretischen Teils der Praktikumsanleitung sollten folgende Fragen beantwortet werden können:

- a) Auf welchem Prinzip beruht die Messmethode Polarographie? Welche Messgröße wird erfasst, und auf welche Größe wird daraus zurückgeschlossen?
- b) Welche Vor- und Nachteile hat die Polarographie bezüglich Umwelt, Preis/Leistung, Zeit- und Personalaufwand etc.?
- c) Welche Stoffe können grundsätzlich mit polographischen Methoden analysiert werden?
- d) Können ausser Wasser auch andere Lösungsmittel (z.B. apolare) für die Polarographie eingesetzt werden? Welche Bedingungen müssen sie zu diesem Zweck erfüllen?

2 Praktikumsbericht

Der Bericht sollte im ersten Teil eine kurze Einführung in die Polarographie enthalten (nicht die Anleitung abschreiben). Der zweite Teil sollte sämtliche experimentellen Daten (Lösungsvorbereitung, Geräteparameter etc.), die Resultate in übersichtlicher Darstellung und eine Diskussion der Resultate enthalten. Sämtliche Polarogramme sind als Anhang beizulegen sowie eine Kopie des Laborjournals.

3 Einleitung

Die Polarographie (Subklasse der Voltammetrie) ist eine elektrochemische Analyseverfahren. Die Voltammetrie umfasst alle elektrochemischen Methoden mit Messung der Stromstärke, die in einer elektrochemischen Messzelle zwischen Festkörperelektroden bei zeitlich veränderter Spannung auftritt, d.h. es werden Strom-Spannungs-Kurven gemessen (Voltammogramme resp. Polarogramme). Als Arbeitselektrode wird meist eine tropfende Quecksilber Elektrode "dropping mercury electrode" (DME) eingesetzt.

Je nach analytischer Problemstellung können verschiedene polarographische Methoden eingesetzt werden, die über unterschiedliche Nachweisgrenzen und Messzeiten verfügen.

Die Polarographie hat ein breites Anwendungsgebiet. Die Methode wird routinemässig in der Lebensmittelindustrie und in der Qualitätskontrolle von Wasser, Pharmazeutika und Schwermetallen eingesetzt.

4 Theoretische Grundlagen [1, 2, 3, 4]

4.1 Nernst'sche Gleichung und Diffusionsstrom

Bei der Polarographie wird eine mit der Zeit zu- resp. abnehmende Gleichspannung an die Messzelle gelegt. Je nach Methode wird diese Gleichspannung zusätzlich mit Rechteckimpulsen oder Wechselspannung moduliert (siehe Kapitel 4.5). Gemessen wird der sich einstellende Diffusionsgrenzstrom ($i_{d,grenz}$). Anhand der Strom-Spannungskurve können sowohl Aussagen über die Quantität als auch über die Qualität des Analyten gemacht werden.

Der gemessene Strom steigt bei zunehmender Spannung erst dann merklich an, wenn das Redoxpotential für den am leichtesten zu oxidierenden Analyten in Lösung erreicht ist. Die Nernst'sche Gleichung (Gl. 1) beschreibt den Zusammenhang zwischen dem an eine Elektrode angelegten Potential und der im Übergangsbereich Elektrolytlösung/Elektrodenoberfläche herrschenden Aktivitäten des reduzierten resp. oxidierten Analyten.

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{a_{ox}}{a_{red}} \right) \quad (1)$$

wobei

- E_0 Standardreduktionspotential
- R allgemeine Gaskonstante ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)
- T absolute Temperatur
- n Anzahl übertragener Elektronen
- F Faraday-Konstante (96485 C mol^{-1})
- a Aktivität der entsprechenden Spezies

Wird das an der Arbeitselektrode angelegte elektrische Potential (E) erhöht oder erniedrigt, ändert sich das Verhältnis von oxidiert zu reduzierter Spezies an der Oberfläche, und es bildet sich zwischen der Elektrodenoberfläche und der Lösung ein Konzentrationsgefälle (Nernst'sche Diffusionsschicht, siehe Fig. 1) aus. Eine Veränderung des Verhältnisses von oxidiert zu reduzierter Spezies ist nach der Nernst'schen Gleichung mit einem Elektronentransport verbunden, der makroskopisch als Diffusionsstrom (i_d) registriert werden kann. Der Diffusionsstrom erreicht einen Grenzwert ($i_{d, \text{grenz}}$), der proportional zur Konzentration des Analyten in Lösung ist. Dieser Zusammenhang wird durch die Ilkovic-Gleichung beschrieben, die hier als Zahlenwertgleichung formuliert ist:

$$i_{d, \text{grenz}} = 708 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} c \quad (2)$$

wobei

- $i_{d, \text{grenz}}$ Diffusionsgrenzstrom [A] (oft auch als i_d bezeichnet)
- D Diffusionskoeffizient [$\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$]
- m Ausflussgeschwindigkeit des Quecksilbers [g s^{-1}]
- t Lebensdauer eines Tropfens [s]
- c Konzentration des Analyten in Lösung [mol cm^{-3}]

Zwischen der Nernst'schen Diffusionsschicht und der Elektrodenoberfläche befindet sich die Helmholtz-Doppelschicht (siehe Fig. 1). Dabei handelt es sich um eine einige Atom- oder Molekülschichten dicke, durch Ladungsverschiebungen hervorgerufene elektrisch geladene Zone an der Grenzfläche zweier Phasen. Sie ist auf der einen Seite positiv auf der anderen negativ aufgeladen und verhält sich wie ein Plattenkondensator. Infolge der sich ständig vergrößernden Tropfenoberfläche der Hg-Elektrode muss zum Aufbau resp. zur Aufrechterhaltung der bei gegebenem Potential konstanten Ladungsdichte in der Helmholtz-Schicht ein sogenannter Ladungs- oder kapazitiver Strom (i_c) fließen. Der kapazitive Strom trägt zum Grundstrom bei und hat einen wesentlichen Einfluss auf die Nachweisgrenze der Methode. Da er sich nicht proportional zur Konzentration des Analyten verhält, kann er zu störenden Verzerrungen der Polarogramme führen. Dies kann jedoch durch geeignete Messmethoden verhindert werden.

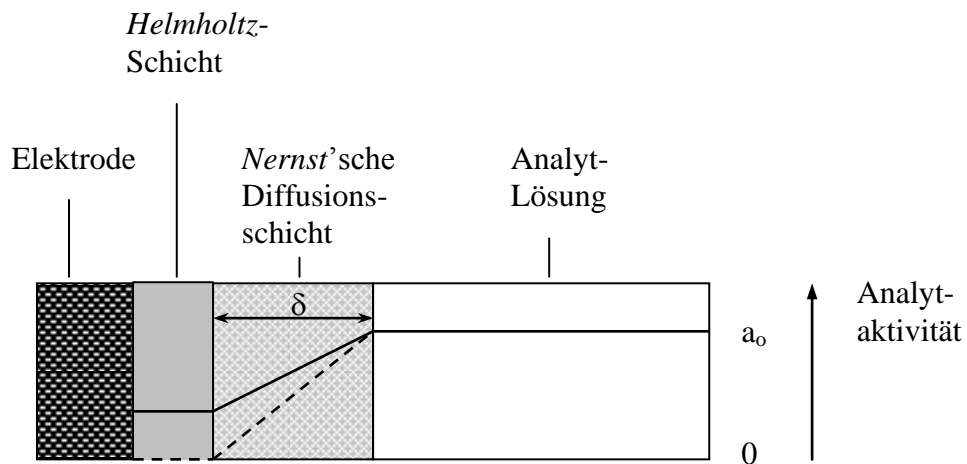


Fig. 1: Aufbau der Phasengrenzschicht an einer Elektrode.

Der an der Arbeitselektrode reduzierte bzw. oxidierte Analyt kann grundsätzlich über drei verschiedene Transportmechanismen an die Elektrode herangeführt werden:

1. Diffusion: Stofftransport aufgrund eines Konzentrationsgradienten
2. Migration: Stofftransport aufgrund der Wanderung geladener Teilchen im elektrischen Feld
3. Konvektion: Stofftransport aufgrund mechanischer Durchmischung

Da man nur am Beitrag durch die Diffusion interessiert ist, werden Konvektion und Migration unterdrückt. Durch Abstellen des Rührers während der Messung kann die Konvektion verhindert werden. Durch Zugabe eines Leitelektrolyten (siehe auch Kapitel 1.3) in hoher Konzentration kann der Beitrag des Analyten zur Migration vernachlässigt werden.

4.2 DME (dropping mercury electrode)

Als Arbeitselektrode wird für die Polarographie die tropfende Quecksilberelektrode eingesetzt. Sie besteht aus einer Glaskapillare (Innendurchmesser: 40 bis 80 μm), die mit einem Quecksilber-Vorratsgefäß verbunden ist. Quecksilber ist giftig, kann jedoch durch Destillation gereinigt und einfach recycelt werden. Die DME hat gegenüber anderen Elektroden (z.B. Au, Pt, Cu etc.) Vorteile:

1. Sie weist eine hohe Wasserstoffüberspannung auf. Unter Überspannung versteht man die Differenz zwischen der dynamischen und der reversiblen Elektrodenspannung für eine elektrochemische Reaktion [5]. Für die Reduktion von Wasserstoff muss in diesem Fall eine höhere Spannung angelegt werden, als aufgrund des Redoxpotentials der Reaktion erwartet wird.
2. Die Quecksilberoberfläche wird ständig erneuert. Es treten daher keine Memory-Effekte aufgrund von Adsorptionen an der Metalloberfläche auf.

4.3 Aufbau der Messzelle

Heute wird für die Polarographie eine Messzelle mit drei Elektroden (siehe Fig. 2) verwendet. Als Arbeitselektrode (AE) wird eine tropfende Quecksilberelektrode (siehe Kapitel 1.2) verwendet, als Referenz (RE) im Allgemeinen eine Ag/AgCl-Elektrode und als

Hilfselektrode eine Graphit- oder Pt-Elektrode. Bei der klassischen Methode wurde als Referenz ein Pt-Draht in den Hg-See am Boden des Messgefässes gesteckt. Es wurde ohne Hilfselektrode gearbeitet.

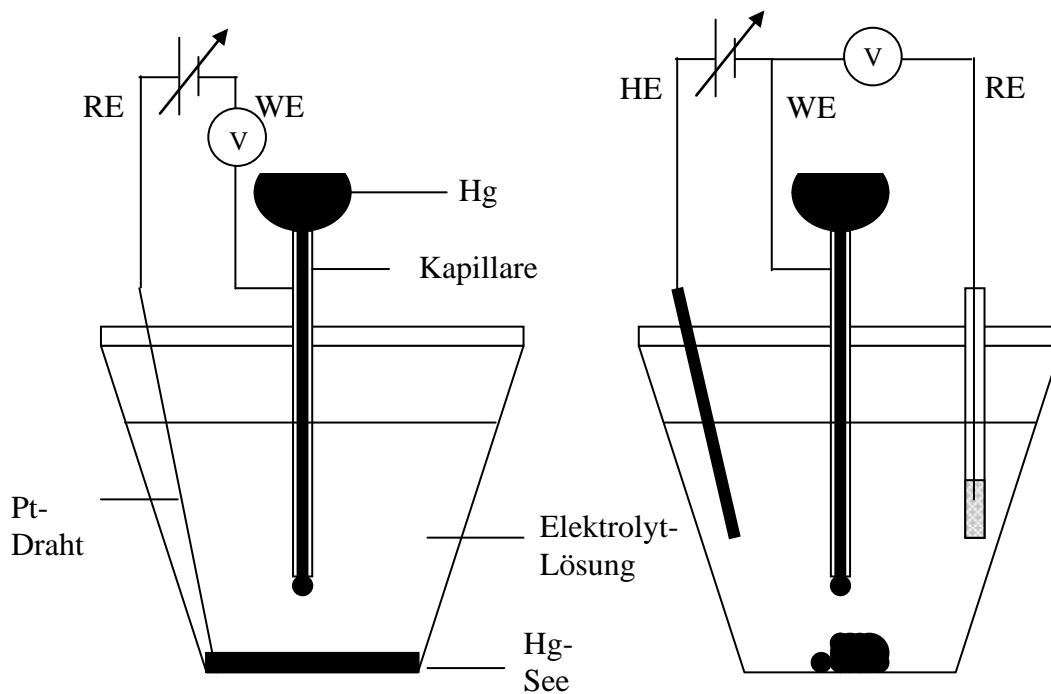


Fig. 2: Aufbau einer klassischen (links) und einer modernen (rechts) polarographischen Messzelle.

Die Arbeits- und Referenzelektroden reichen aus, um den Stromkreis zu schliessen. Vor allem in aprotischen Lösungsmitteln mit tiefer Leitfähigkeit ist der Widerstand über die Messzelle gross. Das führt zu Verzerrungen bei der Messung der Spannung ($E_{\text{Zelle}} = R_{\text{Zelle}} \times i_d$). Diese Verzerrungen können in einer Messzelle mit drei Elektroden vermieden werden, indem der grösste Teil des Stromes über eine grossflächige

Hilfselektrode (auch Ableitelektrode genannt) abgeleitet und die Spannung über der Referenz- und der Arbeitselektrode gemessen wird.

Der Messlösung wird eine hohe Konzentration eines Leitelektrolyten (im gemessenen Spannungsbereich elektrochemisch inert) zugesetzt, der den Innenwiderstand der Lösung und zusätzlich auch den Migrationsbeitrag des Analyten verringert (siehe Kapitel 1.1).

Es können sowohl protische als auch aprotische Lösungsmittel verwendet werden. Massgebend ist die ausreichende Leitfähigkeit des Lösungsmittels, und ob es einen geeigneten Elektrolyt gibt, der darin löslich ist.

4.4 Messbereich und Störungen

Der für die Polarographie nutzbare Spannungsbereich ist abhängig vom verwendeten Lösungsmittel und Elektrolyt. Für wässrige Lösungen wird der Spannungsbereich einerseits durch die Reduktion von Protonen zu Wasserstoff begrenzt (siehe dazu auch Kapitel 1.2 und Fig. 3), andererseits durch die Oxidation des Quecksilbers. In sauren Lösungen kann im Bereich von +0.4 bis -1V, in alkalischen Lösungen im Bereich von +0.4 bis -2V gemessen werden.

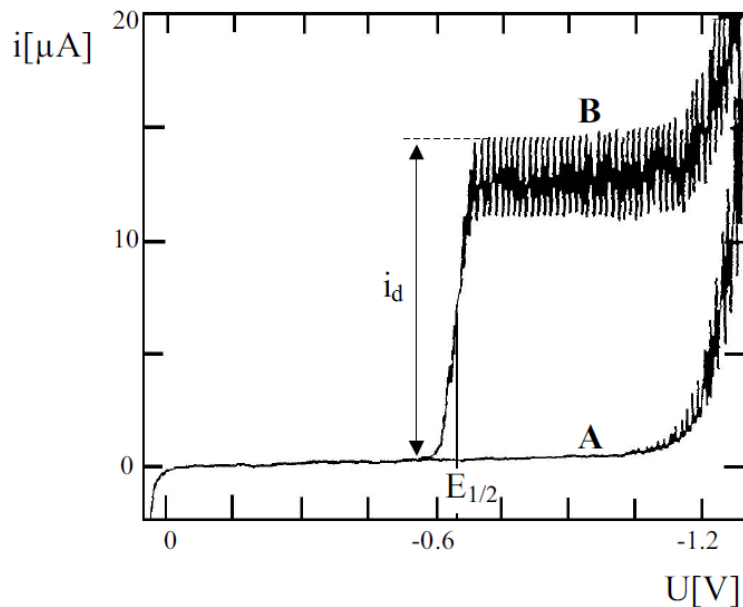


Fig. 3: Polarogramme für 1 M HCl (Kurve A) und 4×10^{-4} M Cd^{2+} in 1 M HCl (Kurve B) [2].

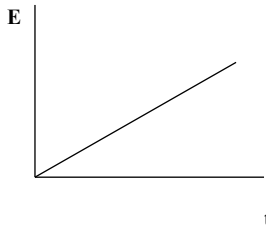
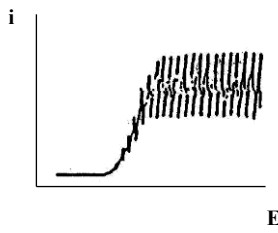
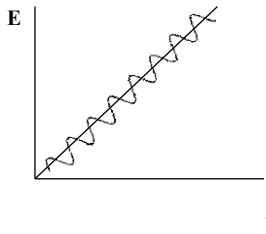
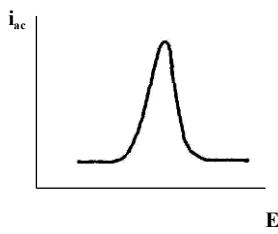
Durch Spülen mit Stickstoff muss vor jeder Messung der gelöste Sauerstoff aus der Probe entfernt werden, da sonst zwei zusätzliche polarographische Stufen beobachtet werden (bei -0.2 V : $\text{O}_2 + 2\text{ H}^+ + 2\text{ e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$; bei -0.9 V : $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{ H}^+ + 2\text{ e}^- \rightarrow 2\text{ H}_2\text{O}$), die je nach Redoxpotential des Analyten mit dessen polarographischer Stufe überlappen.

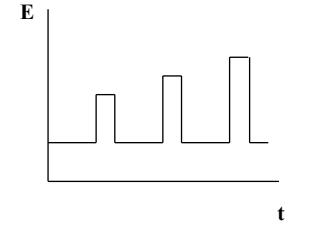
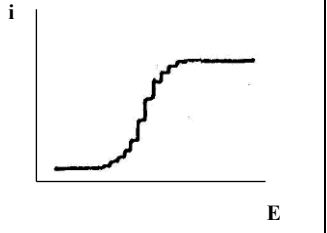
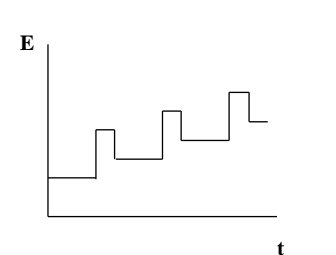
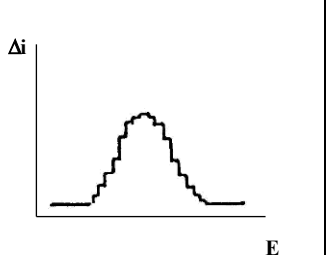
Feststoffe in der Probe (z.B. Fruchtfleisch in Fruchtsäften) stören die Messung im Allgemeinen nicht, der Analyt muss jedoch in gelöster Form vorliegen.

4.5 Messmethoden

Je nach analytischer Problemstellung werden verschiedene polarographische Methoden eingesetzt. In der folgenden Tabelle ist eine Übersicht über die verschiedenen Methoden mit ihren entsprechenden Erfassungsgrenzen und Messzeiten dargestellt:

Tabelle 1: Übersicht über verschiedene polarographische Methoden [6].

Methoden	Betriebsart (Input)	Polarogramm (Output)	Erfassungsgrenze und Messzeit
Klassische Gleichstrom-Polarographie (DC)			ca. 10^{-6} M 1-5 min
Wechselstrom-Polarographie (AC)			ca. $10^{-6} - 10^{-7}\text{ M}$ 1-5 min
Normale Puls-Polarographie			ca. 10^{-7} M 1-5 min

(NP)			
Differential-Puls-Polarographie (DP)			ca. 10^{-8} M 1-5 min

4.5.1 Methoden "rapid" versus "normal"

Man unterscheidet bei der Polarographie grundsätzlich zwischen den Methoden "rapid" und "normal". Bei den Methoden "normal" wird während der Messung keine Manipulation an der Elektrode vorgenommen. Der Quecksilbertropfen fällt von der Kapillare ins Messgefäß, sobald er gross genug geworden ist. Dadurch ist die Lebenszeit von Tropfen zu Tropfen verschieden. Bei den Methoden "rapid" wird der Tropfen in regelmässigen Zeitabständen durch eine mechanische Vorrichtung abgeschlagen.

Der detektierte Strom ist proportional zur Tropfenoberfläche. Er steigt daher während eines Tropfenlebens von null bis zu einem Maximalwert (siehe Fig. 4).

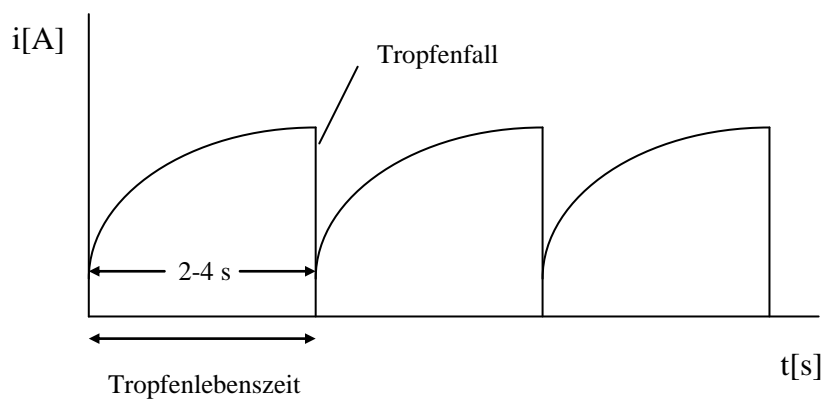


Fig. 4: Stromverlauf während 3 aufeinander folgender Tropfen einer DME.

Bei den Normalmethoden wird der Strom kontinuierlich aufgezeichnet. Das führt dazu, dass im Polarogramm Oszillationen zu beobachten sind, die die Auswertung erschweren oder verunmöglichen (als Beispiel siehe Fig. 3). Bei den Methoden "rapid" ist es aufgrund der konstanten Tropfzeit möglich, das Tropfenleben mit anderen Geräteparametern zu synchronisieren. Dadurch kann der Strom durch Integration über das ganze oder einen Teil Tropfenlebens ermittelt werden. Man erhält so oszillationsfreie Polarogramme.

4.5.2 Gleichstrompolarographie (DCP)

Bei der Gleichstrompolarographie wird eine monoton zunehmende resp. abnehmende Gleichspannung an die Zelle gelegt. Das Polarogramm verläuft stufenförmig. Die Spannung auf halber Höhe der Stufe (Halbstufenpotential $E_{1/2}$) ist für jeden Stoff eine charakteristische Grösse. Die Stufenhöhe h wird durch die Konzentration des Analyten bestimmt und liefert damit eine quantitative Aussage (siehe Fig. 5).

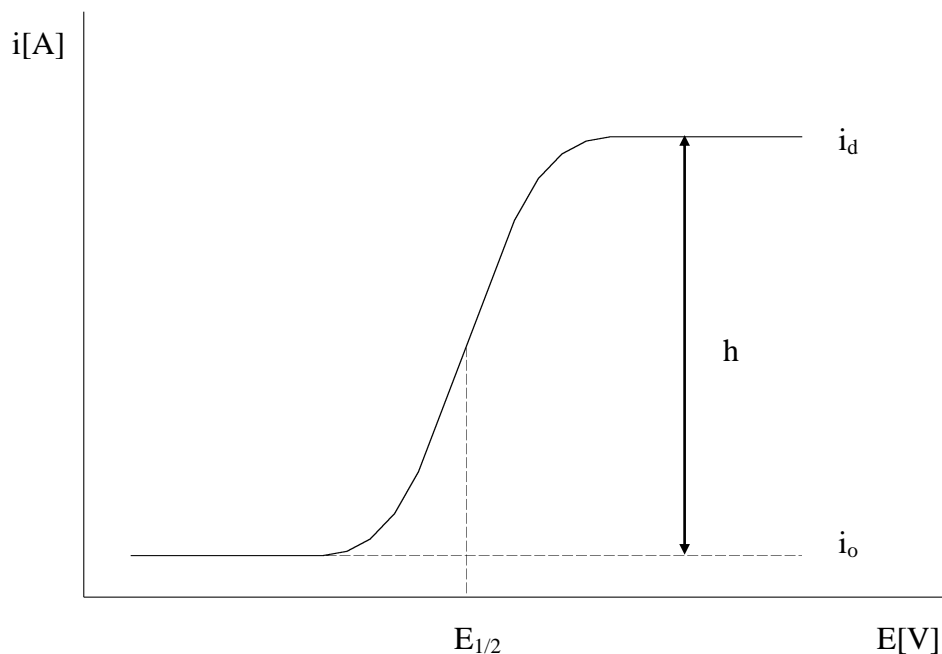


Fig. 5: Schematische Darstellung eines DC-Polarogramms.

Es können mehrere Analyten in derselben Lösung bestimmt werden. Die einzige Voraussetzung ist, dass deren Halbstufenpotentiale genügend weit auseinander liegen.

4.5.3 Wechselstrompolarographie (ACP)

Bei der Wechselstrompolarographie wird die Gleichspannungrampe mit einer kleinen, niederfrequenten Wechselspannung (ΔE) überlagert. Dadurch tritt eine Wechselstromkomponente (Δi) des Stroms in der Zelle in Abhängigkeit von der angelegten Gleichspannung auf, die selektiv gemessen wird (siehe Fig. 6).

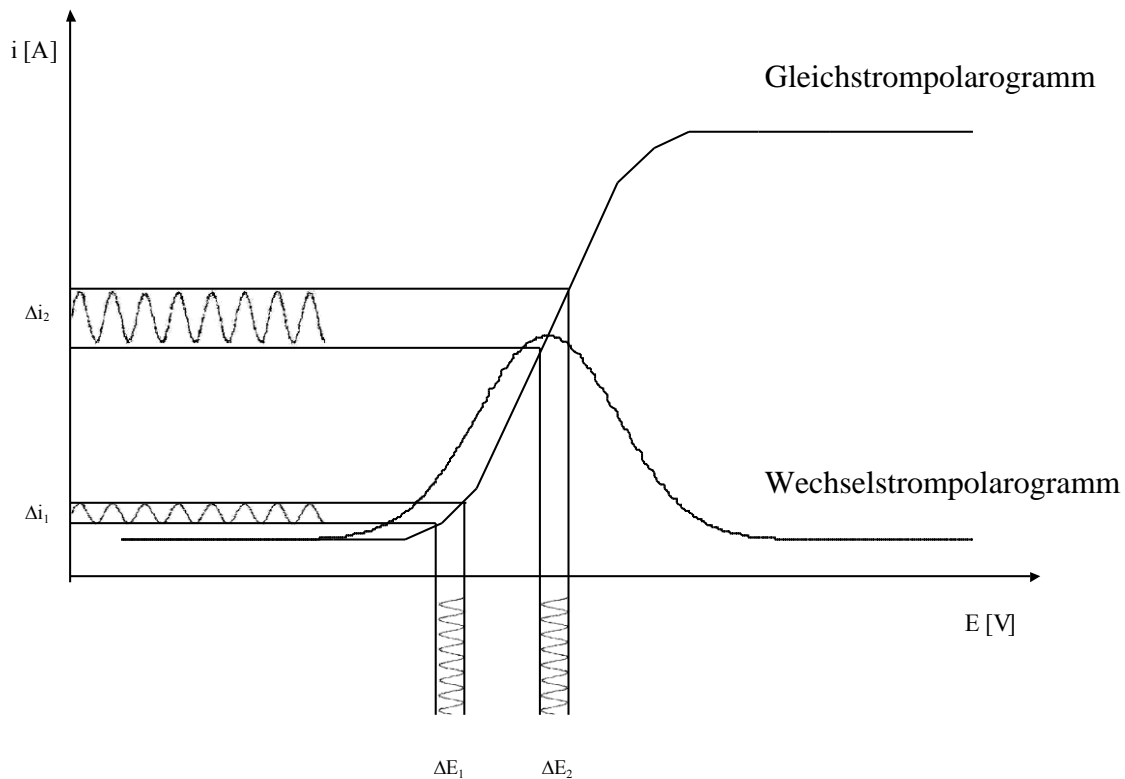


Fig. 6: Vergleich von Gleichstrom- und Wechselstrompolarographie.

Die Wechselstromamplitude nimmt im Bereich der Stufe der DC-Polarographie zu, nach der Stufe wieder ab. Das Wechselstrompolarogramm ist im Wesentlichen die erste Ableitung des Gleichstrompolarogramms. Bei der ACP ist der Peakstrom (i_p ; Strommaximum) proportional zur Konzentration des Analyten in Lösung. Peaks sind besser auswertbar als Stufen und zudem ist der kapazitive Strom bei der Wechselstrompolarographie phasenverschoben zum Diffusionsstrom. Das hat den Vorteil, dass der kapazitive Strom durch geeignete Messung eliminiert werden kann. Damit wird die Nachweisgrenze verbessert und Verzerrungen des Polarogramms vermieden.

4.5.4 Pulspolarographie (NPP, DPP)

Zu den beiden wichtigsten Methoden der Pulspolarographie gehören die Normalpuls- (NP) und die Differentialpulspolarographie (DP).

Bei der NP-Methode wird pro Tropfenleben ein Spannungspuls an die Zelle angelegt. Zwischen den einzelnen Pulsen geht die Spannung wieder auf die Basisspannung zurück. Man erhält stufenförmige Polarogramme.

Bei der DP-Methode wird an die Spannungsrampe pro Spannungsstufe ein Puls angelegt. Der Strom wird unmittelbar vor und nach dem Puls gemessen. Gemessen wird die Differenz aus den beiden Messungen. Man erhält peakförmige Polarogramme.

Der Vorteil der Pulspolarographie besteht darin, dass der Puls am Ende des Tropfenlebens angelegt werden kann. In diesem Bereich ist der Beitrag des kapazitiven Stroms vernachlässigbar klein. Durch das Anlegen eines kurzen Pulses steht in Elektrodennähe mehr elektrochemisch aktive Substanz zur Verfügung als bei anderen Methoden. Beides führt zu einer Empfindlichkeitssteigerung.

4.5.5 Inversvoltammetrie [7]

Bei der Inversvoltammetrie wird der Analyt zunächst durch Reduktion bei konstantem Elektrodenpotential an der Oberfläche einer stationären Elektrode, meist ein Quecksilbertropfen, angereichert. Danach wird der Analyt mit einem inversen Spannungsdurchlauf wieder oxidiert. Gemessen wird der Oxidationsstrom (siehe Fig. 7). Durch die Anreicherung des Analyten im ersten Schritt wird eine Empfindlichkeitssteigerung erreicht. Der Oxidationsstrompeak ist höher als der Reduktionsstrompeak (siehe Fig. 8).

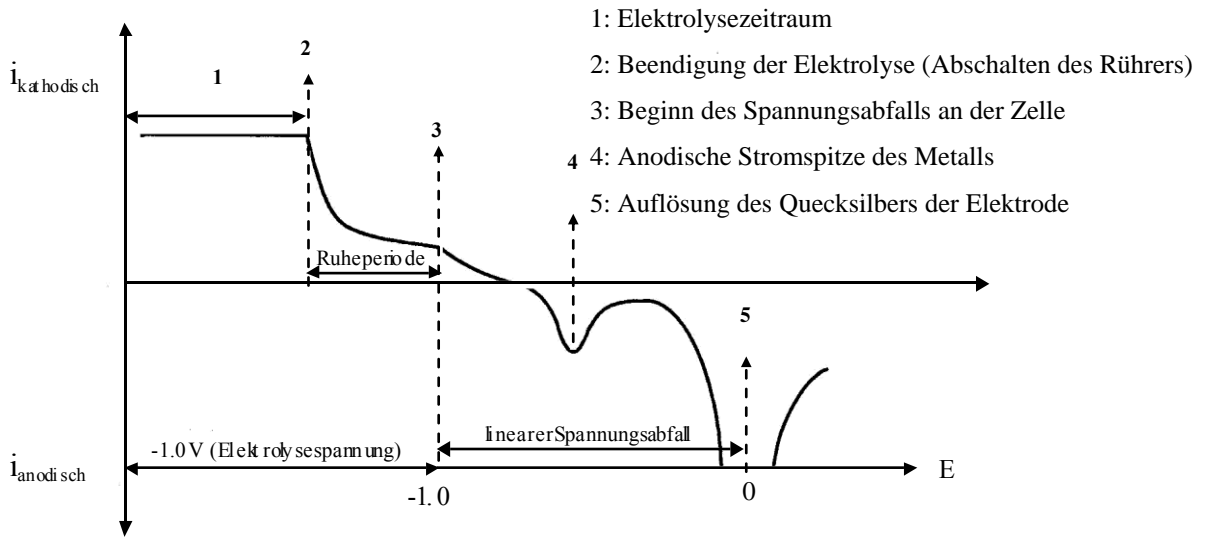


Fig. 7: Gesamtstromverlauf einer invers-voltammetrischen Bestimmung; Abscheidung eines Metalls.

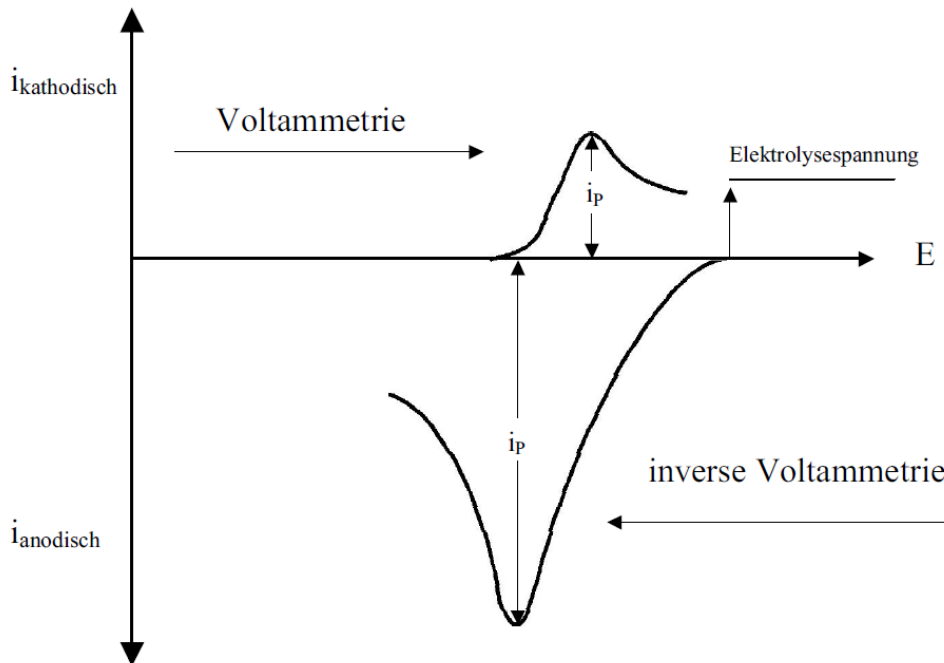


Fig. 8: Strom-Spannungs-Diagramm der Inversvoltammetrie.

5 Versuchsanleitungen

5.1 Allgemeines

Alle Messungen werden mit speziellem Wasser durchgeführt. Dieses Wasser wurde mit Hilfe von Ionentauschern (Millipore) gereinigt. Die Reinheit wird über den Widerstand des Wassers, der 18.2 MΩ betragen sollte kontrolliert und wird als nanopure oder millipore Wasser bezeichnet.

5.1.1 Einschalten der Geräte

Zunächst wird der Computer eingeschaltet (kein Kennwort notwendig), dann der Polarographiestand. Der Knopf befindet sich hinten links am Gerät. Dann wird die Stickstoff-Zufuhr kontrolliert (der Druck sollte bei ca. 1.4 bar liegen). Als nächstes wird die Software aufgestartet: **757 VA Computrace** (ohne Username und Passwort).

Zuerst muss in der Menüleiste **Mode** auf **Determination** gesetzt werden. Unter **Window** können die für die Messung benötigten Fenster geöffnet werden, falls sie noch nicht offen sind: **Working method specifications** zeigt die Parameter der Methode; **Monitor** zeigt die aktuelle Messung; **Determination curves** zeigt alle Messungen mit entsprechenden Auswertungen (z.B. Kalibrationskurve etc.); **Results** (i.A. während einer Messung nicht geöffnet) zeigt eine Zusammenstellung der Resultate.

Unter **Utility** kann die **Computrace control** aufgerufen werden. Mit diesem Fenster kann der Polarograph manuell gesteuert werden (z.B. ein- und ausschalten der Arbeitselektrode).

5.1.2 Ausschalten der Geräte

Nach der Messung wird das Messprogramm geschlossen (unter **File** auf **Exit** gehen). Dann wird der Polarograph und der Computer heruntergefahren werden. Die Elektroden sollten in nanopure Wasser im Messgefäß eingetaucht sein. Auf keinen Fall ohne Flüssigkeit stehen lassen!

5.1.3 Entsorgung

Zwischen dem Wechseln zweier Messlösungen sind die Elektroden vorsichtig mit nanopure Wasser zu spülen.

Alle Messlösungen, in denen sich Quecksilber befindet, müssen in das dafür vorgesehene PVC-Gefäß entsorgt werden. Es dürfen keine Quecksilbertröpfchen zurückbleiben (gut kontrollieren). Danach kann das Messgefäß mit nanopure Wasser gespült werden.

Falls nötig, können Quecksilbertröpfchen mit einem speziell dafür vorgesehenen Hg-Löffel aufgesammelt werden.

5.1.4 Berechnung der Resultate

Die von der Herstellerfirma der Polarographen mitgelieferte Software berechnet Kalibrationsgeraden und Fehlerschranken auf eine wenig zweckmässige Weise. Sämtliche Berechnungen werden daher nachträglich nochmals mit dem Programm Mathematica durchgeführt. Notebooks für die Berechnung einer Kalibriergeraden und für die Standardaddition werden zur Verfügung gestellt.

5.2 Vitamin C-Gehalt Bestimmung in Fruchtsäften

Ziel ist es, den Gehalt an Vitamin C in einer Fruchtsaft-Probe (z.B. Orangensaft, Grapefruitsaft etc.) sowohl mit einer Kalibration als auch mit Standardaddition zu bestimmen und die erhaltenen Werte miteinander zu vergleichen. Es wird für alle Messungen die DP-Methode mit tropfender Quecksilberelektrode verwendet.

Für die Bestimmung von Vitamin C mit Polarographie wird folgende Redoxreaktion ausgenutzt [8]:

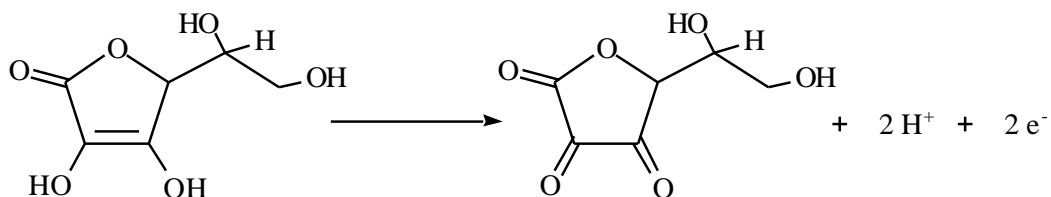


Fig. 9: Oxidation von Ascorbinsäure (Vitamin C) zu Dehydroascorbinsäure.

Das Standardreduktionspotential (E^0) dieser Reaktion beträgt 0.08 V.

Warum muss diese Messung in einem Puffer durchgeführt werden?

5.2.1 Lösungen

Für die Messungen sollen folgende Lösungen vorbereitet werden (alle Mengen sollte entweder Volumetrisch oder über das Gewicht bestimmt werden – Messmethoden sollten nicht gemischt werden):

Acetatpuffer: 50 g Natriumacetat (wasserfrei); 40 g Essigsäure auf einen Liter nanopure Wasser (18MΩ) auffüllen.

Ascorbinsäure- 200 mg Ascorbinsäure; 100 mg Oxalsäure auf 100 ml nanopure Wasser

Standardlösung: Wasser auffüllen. (Diese Lösung muss täglich frisch hergestellt werden.)

Zusätzlich soll pro Gruppe eine Fruchtsaftprobe und eine frische eine Orange mitgenommen werden. Für alle Messungen werden zusammen ca. 5 ml benötigt.

5.2.2 Bestimmung mittels Kalibration

Zur Kalibration werden Lösungen von Vitamin C folgender Konzentrationen durch Verdünnen der Standardlösung hergestellt: 50, 100, 200, 300, 400 und 500 mg/L.

Für die Messung werden die folgenden Lösungen vorbereitet: Es werden 25 ml Acetatpuffer und 1 ml der entsprechenden Kalibrierlösung direkt ins Messgefäß pipettiert. Es stehen für jedes Gerät 2 Messgefäße zur Verfügung. Das erlaubt das Vorbereiten einer Probe, während eine Messung läuft.

Zunächst muss die Methode für die Messung geladen werden: unter **File** in der Menüleiste auf **Load method** und dort im Ordner **Method** → **Praktikum** die Methode **KalibrationVitC1.mth** laden.

Danach muss nur noch den Anweisungen des Programms gefolgt werden. Die erste Kalibrierlösung (tiefste Konzentration der Reihe) wird zuerst vorbereitet. Dann wird im Fenster **Monitor** die Messung gestartet (**Start** drücken). Im selben Fenster wird jeweils angezeigt, bei welchem Schritt sich die Messung gerade befindet. Mit **Hold** kann die Messung unterbrochen werden; mit **Stop** wird die Messung gestoppt, und bei erneutem Start beginnt die Messung wieder beim ersten Schritt (also nicht versehentlich drücken!).

Mit dem Befehl **Next** kann ein Messschritt übersprungen werden, aber auch dieser Befehl kann nicht rückgängig gemacht werden. Es kann nicht rückwärts gesprungen werden. Diese Befehle werden auch bei den folgenden Messmethoden analog verwendet. Nachdem auf **Start** gedrückt wurde, kann im Fenster **Start calibration** unter **Kalibration curve ID** ein neuer ID (z.B. Gruppenname) eingegeben und mit **OK** bestätigt werden. Im Fenster **Batch solution exchange** kann mit **OK** bestätigt werden, dass die erste Messlösung eingesetzt wurde. Das Messprogramm startet dann automatisch das Entgasen (purge) der Lösung und führt einen Potentialdurchlauf zwischen -0.2 V und 0.2 V durch. Es wird ein peakförmiges Polarogramm gemessen (DP Methode!). Das Programm bestimmt automatisch die Peakhöhe, die anschliessend für die quantitative Auswertung benötigt wird. Danach muss die nächste Messlösung unter die Elektroden gesetzt werden. Im Fenster **Batch solution exchange** kann abgelesen werden, welche Konzentration die entsprechende Kalibrierlösung haben muss. Sobald die Lösung vorbereitet ist, kann im Fenster auf **OK** gedrückt werden, und die Messung wird fortgesetzt.

Das wird für alle 6 Messlösungen wiederholt. Das Programm berechnet automatisch die Kalibrationskurve mit linearer Regression und druckt die Resultate aus (siehe dazu auch Abschnitt 5.1.4). Danach sollte im **End of determination** Fenster (erscheint am Ende der Messung) der Filename abgelesen (und notiert!) werden, unter dem die Messung gespeichert wird, dann mit **OK** bestätigen.

Als nächster Schritt wird die Fruchtsaftprobe vorbereitet: Auf 25 ml Acetatpuffer wird 1 ml Fruchtsaft ins Messgefäss gegeben. Dann wird (analog oben) die Methode **VitCsampleKal1.mth** geladen. Danach wird zusammen mit der Assistentin das zuvor gemessene Kalibrationsfile eingelesen und im **Monitor**-Fenster die Messung gestartet. Unter **Sample ID** im Fenster **Place sample** soll wiederum ein neuer ID eingegeben und mit **OK** bestätigt werden.

Danach wird die Probe automatisch 3 mal gemessen und aus dem Mittelwert der drei Peakhöhen wird anhand der Kalibration die Konzentration von Vitamin C in der Probe berechnet (siehe dazu auch Abschnitt 5.1.4). Die Resultate werden gedruckt. Im **End of determination** Fenster soll wiederum der Filename abgelesen werden, unter dem die Messung gespeichert wird, dann mit **OK** bestätigen.

5.2.3 Bestimmung mittels Standardaddition

Für die Addition muss durch Verdünnung der Standardlösung eine Lösung mit einer Konzentration von 200 mg/L Vitamin C vorbereitet werden.

Für die Bestimmung wird eine Fruchtsaftprobe vorbereitet: Auf 25 ml Acetatpuffer wird 1 ml Fruchtsaft ins Messgefäß gegeben. Dann wird (analog oben) die Methode **Standardadd.VitC1.mth** geladen. Das Messgefäß wird unter die Elektroden gesetzt und im **Monitor**-Fenster wird die Messung gestartet. Unter **Sample ID** im **Place sample** Fenster soll wiederum ein neuer Name eingesetzt und mit **OK** bestätigt werden. Die Messung wird gestartet, wobei die Probe zunächst entgast wird. Im folgenden werden 5 mal 0.5 ml der oben vorbereiteten Ascorbinsäure-Lösung zugegeben, sobald das Programm dazu auffordert (jeweils mit **OK** bestätigen). Am Ende der Messung wird die Vitamin C – Konzentration der Probe berechnet (siehe dazu auch Abschnitt 5.1.4) und automatisch gedruckt. Im Fenster **End of determination** soll der Filename abgelesen und mit **OK** bestätigt werden.

5.3 Cu und Zn Gehalt-Bestimmung in Trinkwasser

Ziel ist es, den Zink- und Kupfer-Gehalt in einer Trinkwasser-Probe mit Standardaddition zu bestimmen. Es wird inverse Voltammetrie (anodic stripping) mit einer hängenden Quecksilberelektrode verwendet (warum?). Es wird im DP Modus gemessen.

Die WHO (Weltgesundheitsorganisation) schlägt folgende Grenzwerte für Zn und Cu in Trinkwasser vor:

Zn²⁺: 1.5 mg/L

Cu²⁺: 2 mg/L (guideline value)

Pb²⁺: 10 µg/L (guideline value)

Ni²⁺: 70µg/L (guideline value)

Cd²⁺: 3µg/L (guideline value)

Hg²⁺: 6µg/L (guideline value)

5.3.1 Lösungen

Für die Messungen sollen folgende Lösungen vorbereitet werden:

Acetatpuffer: siehe unter 2.2.1

Zn-Standardlösung: 250 ppm Zn (ppm = mg/kg), aus Zn-Standard (1000 ppm) verdünnen.

Cu-Standardlösung: 15 ppm Cu, aus Cu-Standard (1000 ppm) verdünnen.

Cd-Standardlösung: 100 ppm Cu, aus Cd-Standard (1000 ppm) verdünnen.

Pb-Standardlösung: 25 ppm Cu, aus Pb-Standard (1000 ppm) verdünnen.

Zusätzlich soll pro Gruppe eine Trinkwasserprobe mitgenommen werden. Die Proben müssen in Plastikflaschen (z.B. PET; kein Glas!) transportiert werden.

5.3.2 Bestimmung mittels Standardaddition

Es wird zunächst eine Messlösung vorbereitet: Auf 20 ml der Trinkwasserprobe werden 5 ml Acetatpuffer ins Messgefäß gegeben. Dann wird (analog oben) die Methode **ZnCuTrinkwasser1.mth** geladen. Das Messgefäß wird unter die Elektroden gesetzt und im **Monitor**-Fenster wird die Messung gestartet. Unter **Sample ID** im **Place sample** Fenster soll wiederum ein neuer Name eingesetzt und mit **OK** bestätigt werden. Die Messung wird gestartet, wobei die Probe zunächst entgast wird. Jede Probe wird 3 mal gemessen, wobei ein Potentialfenster von -1.2 bis 0.2 V durchlaufen wird. Sobald das Programm dazu auffordert, wird im Folgenden 2 mal je $50 \mu\text{l}$ der unter 2.3.2 vorbereiteten Zink- resp. Kupfer-Lösung zugegeben, (jeweils mit **OK** bestätigen). Am Ende der Messung wird die Konzentration berechnet (siehe dazu auch Abschnitt 5.1.4) und automatisch gedruckt. Im Fenster **End of determination** soll der Filename abgelesen werden und mit **OK** bestätigt werden.

6 Geplante Messungen:

Folgende Messungen sollen zum Vergleich der Methoden in 5.2.2 und 5.2.3 durchgeführt werden: -

- Messung des Vitamin C Gehaltes einer pasteurisierten Orangensaftprobe mittels
 - o Standardaddition
 - o Kalibration
- Messung des Vitamin C Gehaltes einer frisch gepressten Orangensaftprobe mit einer der beiden Methoden.
- Messungen zur Stabilität des Vitamin C nach verschiedenen Zeitintervallen bei unterschiedlicher Temperatur. Die Lösungen werden bei unterschiedlicher Temperatur über Nacht aufbewahrt und am darauffolgenden Tag erneut vermessen um die Stabilität des Vitamin C in der Lösung festzustellen.

Die Konzentration von Spurenmetallen in Wasser soll an der mitgebrachten Wasserprobe sowie ggf. an einer Wasserprobe aus der ETH untersucht werden.

Zusätzlich wird eine vom Assistenten ausgegebene Probe mit unbekannter Zusammensetzung und unbekannter Konzentration möglichst exakt bestimmt.

Anhand einer verunreinigten Meerwasserprobe soll zusätzlich der Metallgehalt in einer salzhaltigen Probe untersucht werden (Polarographie hat eine hohe Salztoleranz und eignet sich daher gut für derartige Messungen).

-

7 Literaturverzeichnis

3. Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods*, J. Wiley and Sons, inc.: New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto, 2001.
4. Wang, J. *Analytical Electrochemistry*, Wiley-VCH: New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto, 2000.
5. Schwedt, G. *Analytische Chemie*, Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1995.
6. Gebrauchsanweisung Polarecord 506 Serie 03..., Methrom AG: Herisau.
7. Römpp Chemie Lexikon, Georg Thieme Verlag: Stuttgart, New York, 1992.
8. Morf, W. E. *Einführung in die Elektroanalytischen Messmethoden*, Vorlesungsscript Analytische Chemie III.
9. Neeb, R. *Inverse Voltammetrie*, Metrohm AG: Herisau, 1989.
10. Stryer, L. *Biochemie*, Spektrum Akad. Verlag: Heidelberg, Berlin, Oxford, 1996.