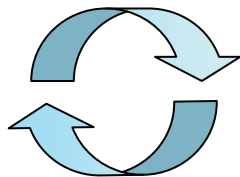


## Beispiel für die Aufstellung einer Kalibrierstrategie

**Betrieb**

[Ausbildungsrahmenplan Nr. 14](#)



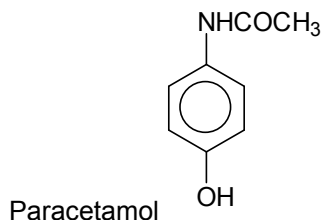
**Berufsschule**

[Rahmenlehrplan Lernfeld 9](#)

### 1. Aufgabe

Für den Analyt „Paracetamol“ soll eine UV-spektroskopische Analyse entwickelt werden.

**Folgende Daten des Paracetamol sind bekannt:** Die Summenformel ist  $C_8H_9NO_2$ , Paracetamol wird auch als N-acetyl-para-aminophenol oder N-Acetyl-4-aminophenol bezeichnet. Es hat eine Dichte von  $1,293 \text{ g/cm}^3$  und eine molare Masse von  $151,2 \text{ g/mol}$ . Es ist ein weißes Pulver, das bei  $168 \text{ C}$  schmilzt und das einen bitteren Geschmack hat. Es wird als Schmerzmittel eingesetzt. Es ist in Alkoholen gut löslich, in kaltem Wasser dagegen nur mäßig ( $14 \text{ Gramm/Liter}$  bei  $20^\circ\text{C}$ ), wohl aber in kochendem Wasser.



### 2. Bestimmung des Extinktionsmaximums

100 mg Paracetamol werden in wenig Methanol gelöst und dann mit Wasser auf 100 mL aufgefüllt. 10,0 mL dieser Lösung werden auf 1000 mL aufgefüllt. Diese Lösung enthält 10 mg (= 0,01g) Paracetamol auf 1000 mL. Von dieser Lösung wird das Extinktionsmaximum in Abhängigkeit von der Wellenlänge aufgenommen. Es liegt bei 243 nm. Die dabei gemessene Extinktion beträgt 0,473 bei der Verwendung einer 1-cm-Küvette.

### 3. Berechnung des molaren Extinktionskoeffizienten $\varepsilon$

Der molare Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  kann aus der Lambert-Beerschen Gleichung erhalten werden. Zunächst wird die Stoffmengenkonzentration der Paracetamol-lösung (0,01 g pro 1000 mL) berechnet:

$$c = \frac{m}{M \cdot V} = \frac{0,01 \text{ g mol}}{151,2 \text{ g} \cdot 1 \text{ L}} = 0,000066 \text{ mol/L}$$

Durch Umstellen der Lambert-Beer'schen-Gleichung erhält man:

$$E = \varepsilon \cdot c \cdot d \Rightarrow \varepsilon = \frac{E}{c \cdot d} = \frac{0,473 \text{ L}}{0,000066 \text{ mol} \cdot 1 \text{ cm}} = 7166,7 \frac{\text{L}}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$$

#### 4. Gerätebedingungen und Konzentrationen der Kalibrierlösungen

Als Erfahrungswert ist bekannt, dass der verwendete UV-Spektralfotometer ein lineares Verhalten zwischen  $E = 0,1$  und  $E = 0,9$  aufweist. Durch Umstellen der Lambert-Beer'schen Gleichung mit dem unter 2.2 berechneten molaren Extinktionskoeffizienten  $\varepsilon$  gelingt die Berechnung der zugehörigen Konzentrationen.

$$E = \varepsilon \cdot c \cdot d \Rightarrow c = \frac{E}{\varepsilon \cdot d}$$

$$\text{Für } E = 0,1: c = \frac{0,1 \text{ mol} \cdot \text{cm}}{7166,7 \text{ L} \cdot 1 \text{ cm}} = 0,0000139 \text{ mol/L}$$

$$\text{Für } E = 0,9: c = \frac{0,9 \text{ mol} \cdot \text{cm}}{7166,7 \text{ L} \cdot 1 \text{ cm}} = 0,000125 \text{ mol/L}$$

Mit Hilfe der Gleichung kann auf die Massenkonzentration umgerechnet werden.

$$c = \frac{m}{M \cdot V} \Rightarrow \frac{m}{V} = c \cdot M$$

$$\text{Für } E = 0,1: \frac{m}{V} = 0,0000139 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \cdot 151,2 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = \underline{\underline{0,00210 \frac{\text{g}}{\text{L}}}}$$

Das entspricht einer Konzentration von 2,10 mg pro 1000 mL oder *0,210 mg pro 100 mL Lösung*.

$$\text{Für } E = 0,9: \frac{m}{V} = 0,000125 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \cdot 151,2 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = \underline{\underline{0,0189 \frac{\text{g}}{\text{L}}}}$$

Das entspricht einer Konzentration von 18,9 mg pro 1000 mL oder *1,89 mg pro 100 mL Lösung*.

Zwischen den Konzentrationen 0,21 mg /100 mL (für  $E = 0,1$ ) und 1,89 mg/100 mL (für  $E = 0,9$ ) ist eine Linearität zu erwarten.

Für eine genaue Linearitätsuntersuchung bei der Kalibrierstrategie werden je nach Branche mindestens 5 bis maximal 10 Kalibrierniveaus erwartet. Die Niveaus sollten zueinander gleichen Konzentrationsabstand haben (Äquidistanz). Sicherheits halber wird der Konzentrationsbereich noch etwas eingengt. Die folgende Reihe entspricht allen Forderungen

0,3    0,6    0,9    1,2    1,5    1,8 mg / 100mL

## 5. Herstellen der Kalibrierlösungen

Für die Herstellung der Kalibrierlösungen wird zunächst eine Stammlösung angesetzt, die dann weiter verdünnt wird. Dabei sind folgende Bedingungen anzustreben:

- Mindestens 100 mg Einwaage verwenden.
- Pipetten nicht unter 10 mL verwenden.
- Messkolben nicht unter 100 mL verwenden.
- Möglichst wenig Lösemittelverbrauch anstreben (Methanol ist teuer).
- Es ist kein Wasser als Lösemittel zu verwenden (Hydrolysegefahr).
- Auf ausreichende Mengen Spülflüssigkeit und Reserve ist zu achten!

Als Messgeräte stehen zur Verfügung:

- Messkolben: 100, 250, 500, 1000 mL
- Pipetten: 10, 20, 25, 50, 100 mL
- Büretten: 25, 50 mL

Im Folgenden sollen drei Strategien für das Herstellen der Kalibrierlösungen diskutiert werden:

### 5.1. Strategie Nr. 1

100,0 mg Paracetamol werden in einen 1000-mL-Kolben eingewogen, der dann mit Methanol aufgefüllt wird. 1,0 mL dieser Stammlösung enthalten somit 0,1 mg Paracetamol.

Wenn mit einer 25-mL-Bürette jeweils

- 3,0 mL Stammlösung
- 6,0 mL Stammlösung
- 9,0 mL Stammlösung
- 12,0 mL Stammlösung
- 15,0 mL Stammlösung
- 18,0 mL Stammlösung

auf 100 mL aufgefüllt werden, werden Lösungen der gewünschten Konzentrationen erhalten.

**Kommentar:** Es ist eine ausreichende Menge an Stammlösung vorhanden, um die Bürette zu spülen. Die Mindestmengen, die bei einer 25-mL-Bürette entnommen werden sollten, werden nicht unterschritten. Allerdings ist der Lösemittelverbrauch sehr hoch (1000 mL Methanol), daher ist die Strategie nicht sinnvoll (höchstens bei Wasser als Lösemittel).

## 5.2. Strategie Nr. 2

100,0 mg Paracetamol werden in einen 100-mL-Kolben eingewogen, der dann mit Methanol aufgefüllt wird. 10,0 mL dieser Lösung werden wiederum in einem Kolben auf 100 mL aufgefüllt. Letztere Stammlösung enthält somit 0,1 mg Paracetamol.

Wenn mit einer 25-mL-Bürette jeweils

- 3,0 mL Stammlösung
- 6,0 mL Stammlösung
- 9,0 mL Stammlösung
- 12,0 mL Stammlösung
- 15,0 mL Stammlösung
- 18,0 mL Stammlösung

auf 100 mL aufgefüllt werden, werden Lösungen der gewünschten Konzentrationen erhalten.

**Kommentar:** Es werden bei dieser Strategie beträchtliche Mengen Methanol eingespart. Allerdings könnte das Stammlösungsvolumen (100 mL) etwas zu gering sein.

Zusammen werden 63 mL Stammlösung benötigt, es stehen insgesamt 100 mL zur Verfügung. Eventuell ist das zu wenig, denn für das Vorspülen des Kolbens, der Bürette und bei Fehlversuchen wird vielleicht mehr Lösung benötigt.

Deshalb könnte die folgende Strategie sinnvoller sein, die allerdings auch mehr Paracetamol und Lösemittel verbraucht:

## 5.3. Strategie Nr. 3

200,0 mg Paracetamol werden in einen 100-mL-Kolben eingewogen, der dann mit Methanol aufgefüllt wird. 10,0 mL dieser Lösung werden in einem Kolben auf 250 mL aufgefüllt. Letztere Stammlösung enthält somit 0,1 mg Paracetamol.

Wenn mit einer 25-mL-Bürette jeweils

- 3,0 mL Stammlösung
- 6,0 mL Stammlösung
- 9,0 mL Stammlösung
- 12,0 mL Stammlösung
- 15,0 mL Stammlösung
- 18,0 mL Stammlösung

auf 100 mL aufgefüllt werden, werden Lösungen der gewünschten Konzentrationen erhalten.

## 6. Probenmesslösung

Die Probenmesslösung ist so einzustellen, dass die Extinktion in die Mitte des Messbereiches gelangt, das wären in unserem Beispiel ca. 0,9 bis 1,2 mg / 100 mL. Daher muss die ungefähre Konzentration der Probe bekannt sein, damit durch geeignete Verdünnungen dieser Konzentrationsbereich der Messlösung erreicht wird.

Ist zum Beispiel zu erwarten, dass das zu prüfende Paracetamol eine Reinheit von ca. 80 % hat, könnte die Strategie so aussehen:

$$\text{Für 80 \%: } m = \frac{250 \text{ mg} \cdot 100 \%}{80 \%} = 312,5 \text{ mg}$$

(entspricht in etwa 250 mg) werden abgewogen, in Methanol gelöst und auf 100 mL verdünnt. 10,0 mL dieser Lösung werden auf 250 mL aufgefüllt. Zwischen 9 und 12 mL werden genau abgemessen und auf 100 mL verdünnt.

**Entwickeln Sie weitere Strategien und prüfen Sie diese auf ihre Praktikabilität!**

**7. Umsetzungsvorschlag für den Ausbildungsbetrieb****7.1. Herstellung der Probe**

Die Probe wird vom Auszubildenden selbst gemischt.

**7.2. Zeitbedarf**

Der durchschnittliche Zeitbedarf zur Durchführung der Aufgabe beträgt ca. 8 Stunden.

**7.3. Bewertung**

Eine Bewertung ist nicht vorgesehen.