

Die unmittelbare Bestimmung von Uranin-Spuren bei Färbversuchen

Von WERNER KÄSS (Freiburg i. Br.)

Inhalt:

- A. Allgemeines
- B. Ausführung der Uraninbestimmung
- C. Eigenschaften des Uranins und Störungen
- D. Erfassungsgrenzen
- E. Zusammenfassung
- F. Schrifttum

A. Allgemeines

Mit der fortschreitenden Industrialisierung und mit dem zunehmenden Wohlstandsbedürfnis des Menschen steigt der Bedarf an Trink- und Brauchwasser. Gleichzeitig wird der Vorrat dieses, der Menge nach wohl wichtigsten Rohstoffes immer geringer, und man ist gezwungen, auch Wasservorräte minderer Qualität zu erschließen bzw. auch solche Wässer aufzuarbeiten, die einer gewissen Gefährdung ausgesetzt sind. Weiterhin ist man durch den mächtig angeschwollenen Abwasserstrom gezwungen, sorgfältige Überlegungen über seine Abflüsse anzustellen.

Herkunft eines Nutzwassers oder Verbleib eines Abwassers sind nicht immer klar ohne besondere Hilfsmaßnahmen zu erkennen. Eines dieser Hilfsmittel ist das Kennzeichen des Wassers mit einem Markierungsstoff. Vergleichende Versuche, die der Verfasser hierzu zusammen mit G. SCHULZ und K. EISSELE im Jahre 1959 bei Oberndorf/Neckar (Landkreis Rottweil) durchgeführt hat, ergaben eindeutig, daß in den allermeisten Fällen Uranin das empfindlichste, zweckmäßigste und billigste Mittel ist (G. SCHULZ 1961). Allein in Baden-Württemberg wurden im Jahre 1963 durch das Geologische Landesamt rd. 200 kg Uranin bei 40 Versuchen zum Einsatz gebracht!

Nachstehend seien die wichtigsten Fälle aufgeführt, bei denen mit Vorteil Markierungsstoffe Verwendung finden können:

1. Untersuchung über die Herkunft eines Wassers durch Einbringen eines Markierungsmittels in seinem vermuteten Einzugsgebiet (z. B. zur Abgrenzung unterirdischer Wasserscheiden);
2. Nachweis über den Verbleib eines versickernden Abwassers;
3. Nachweis unterirdischer Verbindungswege (z. B. Umläufigkeiten bei Wasserstauhaltungen oder bei versiegenden Quellen);
4. Feststellung von Fließgeschwindigkeit und -richtung in einem Kies- oder Sandgrundwasserkörper;
5. Nachweis von Wasser aus Oberflächengewässern in angrenzenden Absenkungstrichtern.

Insbesondere bei sogenannten „Ölunfällen“ ist oft ein rascher und sicherer Nachweis über das Einzugsgebiet eines gefährdeten Wassers notwendig. Zur Abgrenzung von Schutzgebieten ist die Kenntnis über die Grundwasserfließgeschwindigkeiten im Hinblick auf die hygienische Beurteilung besonders wichtig.

Bei der früher allgemein üblichen qualitativen Beobachtung über das Auftreten des Farbstoffes wurden bewußt oder unbewußt mehrere Mängel in Kauf genommen: einmal blieben Spuren von Farbstoff oftmals unbeobachtet, zum anderen ergaben Beobachtungen mit dem Auge allein nur einen ganz rohen Konzentrationsverlauf. In den letzten Jahren wurde daher im geochemischen Laboratorium des Geologischen Landesamts in Baden-Württemberg ein Verfahren entwickelt, das auf raschem und sicherem Weg die unmittelbare Bestimmung und Messung kleinster Uraninkonzentrationen erlaubt. So werden hierbei Farbstoffverdünnungen ermittelt und quantitativ gemessen, die rund 1000mal unter der Sichtbarkeitsgrenze liegen. Wesentlich dabei ist, daß die Bestimmung unmittelbar, d. h. ohne Anreicherungsverfahren, erfolgt. Allein bei einem Färbversuch mittleren Umfangs fallen rund 400 Proben an; Anreicherungsverfahren würden dabei zu aufwendig und unwirtschaftlich werden.

B. Ausführung der Uraninbestimmung

Zur Ermittlung der qualitativen Untersuchungsmöglichkeit wurde ein Vorversuch durchgeführt. In 300-ml-Weithals-Erlenmeyerkolben wurden jeweils 0,25 l einer Konzentrationsreihe zwischen 5 und 50 mg Uranin/m³ eingefüllt und unter verschiedenen Bedingungen geprüft:

	in Einzelproben erkennbar	im Vergleich mit reinem Wasser erkennbar
gedämpftes Tageslicht, weißer Untergrund	40	30 mg Uranin/m ³
gedämpftes Tageslicht, schwarzer Untergrund unter der Quarzlampe,	20	10 mg Uranin/m ³
schwarzer Untergrund	10	5 mg Uranin/m ³

Man sieht, daß bei der Beobachtung mit dem Auge die Nachweisgrenzen unter den verschiedenen Umständen sehr verschieden liegen können. Unter günstigen Bedingungen (z. B. größere Schichtdicken) können obenstehende Werte unter Umständen noch verbessert werden.

O. J. KLATTE gab 1962 eine ausführliche Aufstellung über die in bisherigen Veröffentlichungen festgestellten Nachweisgrenzen von Uranin. Danach sind die geringsten Konzentrationen um 0,1 mg Uranin/m³ nur unter besonders günstigen Bedingungen, wie reines Wasser, ausgedehnte Filtration oder Ausätherung, erreichbar. Anscheinend wurde aber eine fotoelektrische Methode noch nie beschrieben. Für die in den letzten Jahren in Gebrauch gekommenen, leicht zu handhabenden lichtstarken und empfindlichen optischen Meßgeräte bietet sich aber eine solche Methode geradezu an. Zur Untersuchung der optimalen Bestimmungsbedingungen wurden vom Verfasser in den letzten Jahren ausgedehnte Versuche unternommen und schließlich eine Methode erarbeitet, die sich inzwischen gut bewährt hat. Dabei wurde nicht nur Wert auf größte Empfindlichkeit und Genauigkeit, sondern auch auf wirtschaftlich vertretbaren Zeit- und Materialaufwand beim Durchsatz größerer Probenserien gelegt.

In Abb. 1 sind verschiedene Kurven dargestellt, die das spektrale Verhalten des Uranin betreffen. **Kurve E** zeigt den spektralen Verlauf der Absorption. Es wurde an einer einhundertstelmillimolaren Lösung ermittelt und auf die molare dekadische Extinktion epsilon umgerechnet. Es ist der Kehrwert derjenigen Schichtdicke (in cm), die einen Lichtstrahl von der betreffenden Wellenlänge auf den zehnten Teil seiner Intensität schwächt. Man erkennt zwei Absorptionsspitzen, eine hohe bei 489,2 nm mit $\epsilon = 68\,500$ und eine niedrige bei 324 nm mit $\epsilon = 7400$; weiter nach dem kurzwelligen Gebiet hin steigt die Absorptionskurve wieder an, während von rund 530 nm an zu längeren Wellenlängen praktisch keine Absorption mehr vorhanden ist.

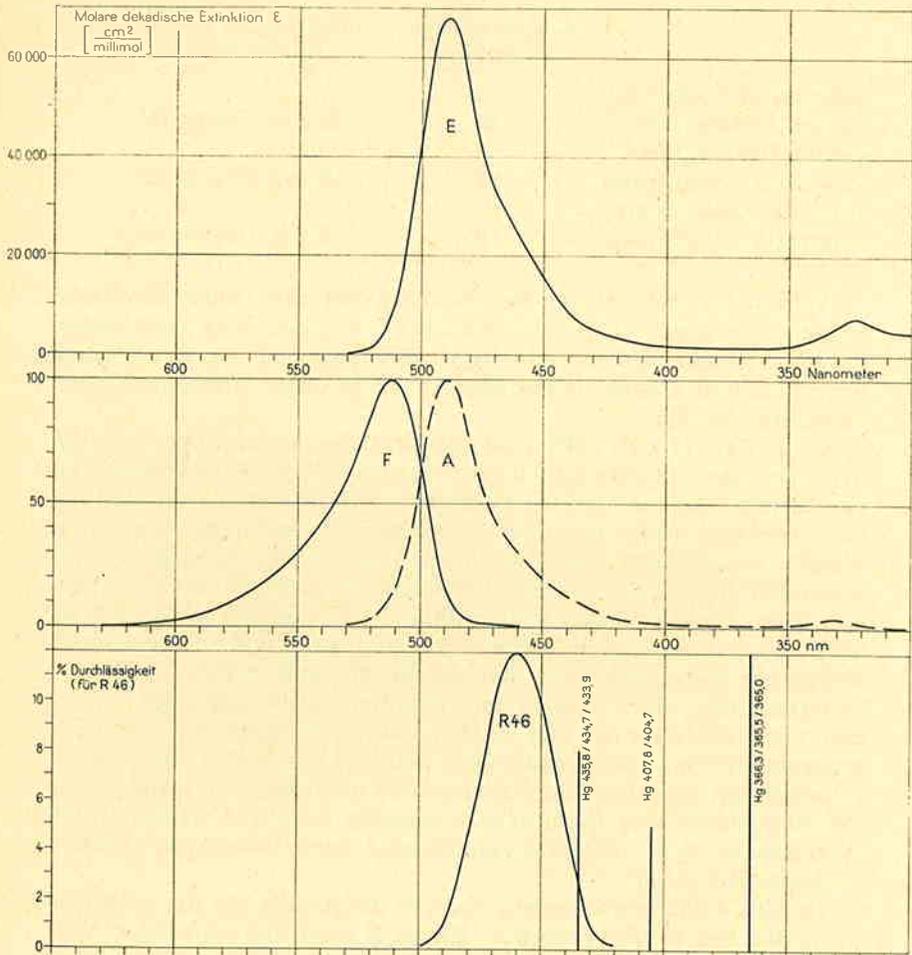


Abb. 1: **E**: Absorptionskurve (spektraler Verlauf der molaren dekadischen Extinktion).

F: Fluoreszenzkurve (100 mg Uranin/m³).

A: Fluoreszenzausbeute (in willkürlichen Einheiten).

R 46: Durchlässigkeit des ZEISS-R-46-Filters (in %, linke Ordinate).

Hg.: Lage und relative Intensität verschiedener Quecksilberlinien.

Die zugehörigen Spaltbreiten sind: Kurve E: 0,01 mm, Kurve F und A 0,1 mm. Die Kurve F und die Intensitäten der Hg-Linien sind sowohl von der spektralen Empfindlichkeit des Empfängers (hier: RCA-Vervielfacher 1 P 28) als auch von der Dispersion des Quarz-Monochromators abhängig. Beide Einflüsse sind im hier betrachteten Wellenlängenbereich nicht erheblich und können bei qualitativer Betrachtung außer acht bleiben. Den Kurven E, A und R 46 liegen Vergleichsmessungen zugrunde, für sie besteht daher nicht diese Abhängigkeit.

Die Kurve F stellt den spektralen Verlauf der Fluoreszenz dar. Sie wurde an einer Lösung von 100 mg Uranin/m³ = Verdünnung 1 : 10⁻⁷ mit dem ZEISS-Spektralphotometer und dem Fluoreszenzzusatz ZFM 4 bestimmt. Die Spaltbreite betrug 0,1 mm bei größter Verstärkung 10/10/II; die Ordinate bezieht sich auf die dabei erhaltenen Ausschläge der 100teiligen Anzeigeskala. Wie man sieht, hat die Kurve eine steile kurzwellige und eine wesentlich flachere langwellige Seite. Das Maximum liegt bei 514 nm (grün). Lösungen mit einem höheren Gehalt an Uranin weisen eine Verschiebung des Fluoreszenzmaximums auf. Die kurzwelligen Anteile des Fluoreszenzlichtes werden, wenn die Konzentration hoch genug ist, absorbiert und bewirken, daß nur die längerwelligen Anteile austreten können. Bei einem Gehalt von 1000 mg Uranin/m³ liegt das Fluoreszenzmaximum bei 516 nm, bei 10.000 mg/m³ bei 523 nm. Zur Uraninbestimmung wird grundsätzlich bei der Wellenlänge 515 nm gemessen. Sie ist am Spektrometer reproduzierbar einstellbar, da sie mit einem Skalenstrich versehen ist. Die leichte Einbuße an Intensität bei höheren Konzentrationen (Umbiegen der Eichkurve) ist unbedeutend.

Die Kurve A der Fluoreszenzausbeute verläuft zur Kurve F fast spiegelsymmetrisch (Symmetriegerade bei 499 nm). Sie wurde im umgekehrten Strahlengang — ebenfalls bei der Spaltbreite 0,1 mm — aufgenommen und stellt das Verhältnis der eingestrahlenen-spektralveränderlichen-Lichtenergie zur Gesamtfluoreszenz in willkürlichen Einheiten dar. Die Kurve ist mit der Absorptionskurve E nahezu deckungsgleich. Bei 530 nm beginnt die Anregung der Fluoreszenz und erreicht rasch bei 489 nm den Höchstwert, um dann langsam wieder abzufallen. Festzuhalten ist hier, daß bereits bei 472 nm die Fluoreszenzausbeute auf die Hälfte wieder abgefallen ist. Bemerkenswerterweise kommt bei dieser Kurve das kleine Absorptionsmaximum bei 324 nm mit einer schwachen Erhöhung der Fluoreszenzausbeute wieder zum Ausdruck. Aus dem Verlauf der Kurve A geht klar hervor, daß für eine gute Anregung eine Lichtquelle mit einer Wellenlänge möglichst nahe am Absorptionsmaximum 489 nm verwendet werden sollte. Das starke Hg-Triplett bei

365 nm (langwelliges Ultra-Violett) regt die Fluoreszenz zu weniger als 2% an.

Die Verwendung dieser an sich sehr intensiven Liniengruppe hat eigentlich nur für qualitative Untersuchungen (s. o.) einen Sinn, wobei die UV-Unempfindlichkeit des menschlichen Auges die Funktion eines Sperrfilters ausübt. Das Dublett 407,8/404,7 nm ist wesentlich schwächer und vermag die Fluoreszenz nicht stärker anzuregen. Von allen Quecksilberlinien ist am ehesten das Triplet bei 435 nm geeignet, jedoch ist hier die Fluoreszenz-Ausbeute noch weit vom optimalen Wert entfernt. Bessere Erfolge wurden durch Verwendung einer Wolframlampe in Verbindung mit dem Filter R 46 erzielt. Letzteres ist zwar zur Bestimmung des Remissionsgrades vorgesehen, wesentlich ist jedoch, daß seine Durchlässigkeit vom Maximum bei 460 nm zu längeren Wellenlängen rasch abfällt. Nachstehende Aufstellung zeigt die Verbesserungen der Nachweisbarkeit bei Verwendung der verschiedenen Lichtquellen und Filter:

Lampe	Filter	Freiburger Leitungswasser mit		Verhältnis $\frac{b}{a}$
		a) 0	b) 1,0 mg U./m ³	
Hg	M 365	76	138 Skalenteile	1,82
Hg	M 436	74	315 Skalenteile	4,25
W	M 436	21,5	106 Skalenteile	12,9
W	R 46	1,2	30 Skalenteile	25,1
W*	DAL 482	1,4	98 Skalenteile	70

Das Verhältnis der Galvanometer-Ausschläge der Farbstofflösung steigt von kürzeren zu längeren Anregungswellenlängen stetig an. Auch für das Monochromatfilter M 436 ist ein beachtlicher Gewinn zu erzielen, wenn man von der Quecksilber- auf die Wolframlampe übergeht; wohl durch Verlagerung des wirksamen Filterschwerpunktes sowie durch den Wegfall des Raman-Effekts (s. C, f).

Eine weitere Verbesserung ist u. U. durch Anregung mit einem Interferenzfilter möglich. Auf Wunsch können solche Interferenzfilter mit einer bestimmten Lage des Durchlaßmaximums von der optischen Industrie geliefert werden. Sie haben im allgemeinen einen hohen Durchlaßgrad im Maximum und eine schmalere Halbwertsbreite als Absorptionsfilter. Entsprechende Versuche mit Interferenzfiltern sind zur Zeit in Vorbereitung.

* Untersuchungen mit SCHOTT Interferenz-Doppelbandfilter DAL 482 nm (nach Abgabe des Manuskripts).

Weiterhin ist daran zu denken, einen durch Resonanz-Fluoreszenz erzeugten Lichtstrahl (= LASER) zur Anregung zu verwenden. Die Wellenlängen der zur Zeit gebauten Geräte liegen zwar im roten und ultraroten Spektralbereich, doch ist zu erwarten, daß auch andere Bereiche noch erschlossen werden. Eine solche Anregung wäre als nahezu ideal zu bezeichnen: mit einem streng

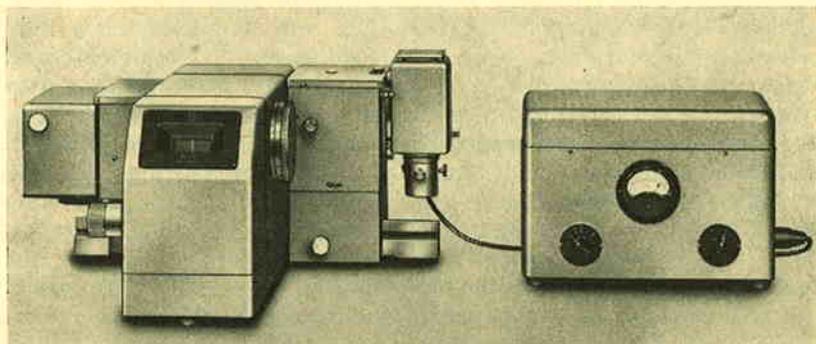


Abb. 2: Spektralphotometer zur Fluoreszenzmessung.
 Von rechts nach links: Stromversorgungsgerät für die Quecksilberlampe mit zum Lampengehäuse führendem Kabel, Küvettengehäuse, Monochromator, Empfängergehäuse. Das Anzeigergerät ist nicht abgebildet.

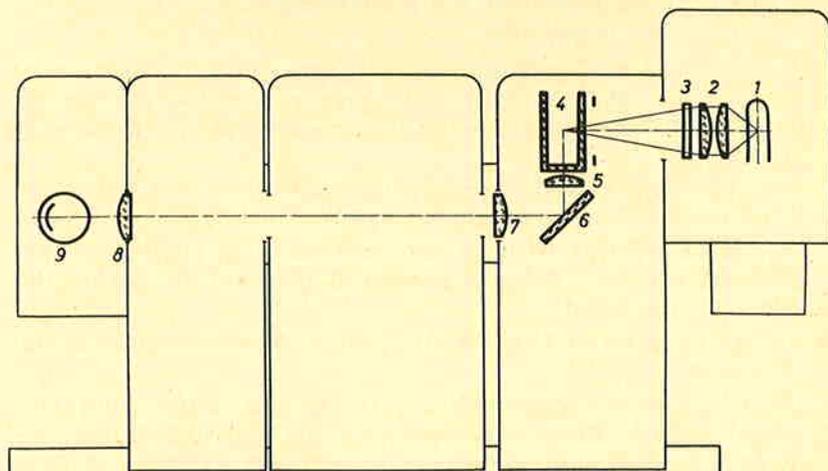


Abb. 3: Schematischer Strahlengang bei der Fluoreszenzmessung.
 Die Vorlagen für die Abb. 2 und 3 stellte freundlicherweise Firma Carl ZEISS, Oberkochen/Württ., zur Verfügung.

monochromatischen und parallelen, sehr intensiven Strahlenbündel müßte mit einem Minimum an Streulicht ein Maximum an Ausbeute zu erzielen sein.

Zu fast allen handelsüblichen Kolorimetern und Spektralphotometern können Fluoreszenz-Zusätze geliefert werden. Abb. 2 zeigt die Ansicht eines Spektralphotometers mit Zusatzgerät und Stromversorgung, aber ohne das Anzeigergerät. In Abb. 3 ist der schematische Strahlengang dargestellt. Die von der Lampe (1) ausgehenden Lichtstrahlen werden im Kondensator (2) gesammelt und durch das Anregungsfilter (3) in der Küvette (4) vereinigt. Das dort erzeugte Fluoreszenzlicht strahlt nach allen Seiten gleichmäßig. Der senkrecht zum anregenden Strahlenbündel durch den polierten Küvettenboden austretende Anteil des Fluoreszenzlichtes wird in der Linse (5) gesammelt und durch den Umlenkspiegel (6) in den in der Mitte der Anordnung sich befindenden Monochromator gesandt, wo er spektral zerlegt wird. Im Empfänger (9) wird der aus dem Monochromator austretende Lichtstrahl seiner Intensität gemäß in einen elektrischen Strom umgewandelt, der in einem besonderen Gerät angezeigt wird. Das hier verwendete ZEISS-Gerät besitzt eine stufenweise veränderliche Verstärkungseinrichtung im Verhältnis 1 : 3000. Damit kann ein sehr großer Intensitätsbereich erfaßt werden, ohne daß die Spaltbreite verstellt werden muß.

Gegenüber der serienmäßigen Ausführung wurden folgende Geräteänderungen vorgenommen:

1. Austausch der Quecksilberlampe gegen eine Wolframlampe (Osram 38 0163, 6 V, 30 W) mit gerader Wendel, wie sie zur Grundausrüstung eines Spektralphotometers für die Kolometrie gehört.
Der Anschluß erfolgt zweckmäßigerweise über ein Zwischenkabel am Stromversorgungsgerät zur Wolframlampe.
2. Im Lampengehäuse wird an der Rückwand ein Hohlspiegel angebracht, der die Wendel in sich selbst, aber auf die Lücken der Windungen abbildet.
3. Als Anregungsfilter [Abb. 3 (3)] wird R 46 (Sonderanfertigung) eingesetzt.
4. Die Küvetten-Wechseleinrichtung für 1-cm-Küvetten wird ausgebaut und eine Platte mit Durchbruch für Lichtaustritt und seitlichen Anschlägen für besonders angefertigte Küvetten (65 mm breit, 45 mm tief, 50 mm hoch) eingesetzt. Kleinere Küvetten sind wegen der später zu besprechenden Vorbehandlung des Wassers nicht verwendbar. Diese größeren Küvetten werden mit

schwarzem Eisenlack auf der Außenseite bis auf ein rechteckiges Lichteintritts- und ein rundes Lichtaustrittsfenster lackiert. Versuche, die Intensitäten mit verspiegelter Küvettenrückwand und einem gut reflektierenden Hohlspiegel im Gehäusedeckel zu steigern, brachten eine ungleich höhere Steigerung des Streulichtanteils. Daher wurde bei unverspiegelter Küvettenrückseite und beim Schwarzglasspiegel im Gehäusedeckel verblieben.

5. Für Färbversuche sind ausschließlich Serienuntersuchungen erforderlich. Zur rascheren Übersicht über die Meßergebnisse wird das Anzeigergerät mit einem Schreiber verbunden und von jeder Messung ein 1 cm langer Registrierschrieb gefahren.

Eine eingewogene Menge von 1,0 g Natriumfluoreszein wurde mit Freiburger Leitungswasser (pH 7,0; Gesamthärte 1,1 mval/l) zunächst auf 1 l aufgefüllt. Von dieser Stammlösung wurden Verdünnungen jeweils im Verhältnis 1 : 10 hergestellt und in vorstehend beschriebener Anordnung die Fluoreszenzstärken bei 515 nm ge-

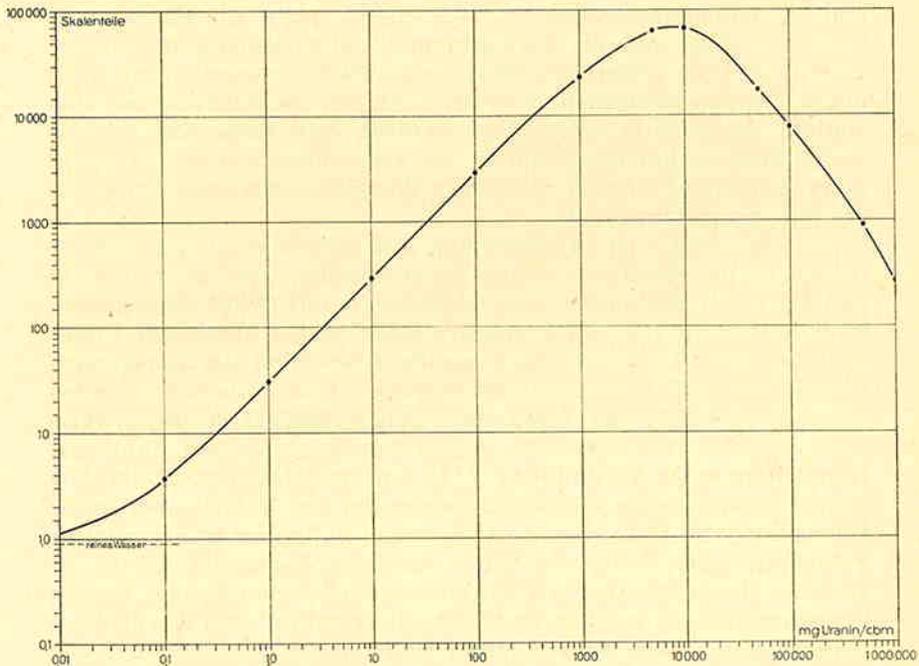


Abb. 4: Eichkurve im doppeltlogarithmischen Maßstab zwischen 0,1 und 1 000 000 mg Uranin/m³.
Abszisse: Uraninkonzentration; Ordinate: Skalenausschläge.

messen. Um dem Vorstellungsvermögen entgegenzukommen, werden die Uraninkonzentrationen nicht in gamma/l oder in Potenzzahlen, sondern grundsätzlich in mg/m^3 angegeben. Dies erleichtert nicht nur die Schreibweise, sondern auch die Umrechnung bei der Auswertung. Abb. 4 zeigt die durch Messung der Eichlösungen aufgestellte „Eichkurve“ in doppellogarithmischer Darstellung für den Konzentrationsbereich zwischen 0,1 und 1 Million mg Uranin/m^3 (Abszisse). Die Feinverstärkung wurde so eingestellt, daß für die Lösung 1,0 mg/m^3 genau 30,0 Skalenteile erhalten werden. Als Fluoreszenzstandard wird aber nicht eine Uraninlösung, sondern ein Kunstharzkörper mit den Ausmaßen der Küvetten benützt, der wiederum mit Ausnahme der Lichteintritts- und -austrittsfenster schwarz lackiert ist. Diesen Standard kann man mit Kunstharzlösung, dem etwas styrollösliches Fluoreszenzgrün IF 3801 beigemischt ist (Hersteller: Farbenfabriken G. Siegle, Stuttgart-Feuerbach), leicht selbst herstellen. Bei der höchsten Verstärkung ist eine Einheit der Anzeigeskala ein Skalenteil; bei Überschreitung einer Uraninkonzentration von 3,3 mg/m^3 reicht die Skala nicht mehr aus, dann muß die Verstärkung um eine Zehnerstufe zurückgestellt und der angezeigte Wert verzehnfacht werden. Wenn auch dieser Bereich überschritten wird, kann die Verstärkung um eine weitere Zehnerstufe vermindert werden. Falls dann noch höhere Intensitäten vorkommen, muß die am Vervielfacher angelegte Spannung verkleinert werden, was einer Verstärkungsverminderung um das 30fache gleichkommt.

Aus der Abb. 4 ist zu entnehmen, daß zwischen 1,0 und 1000 mg Uranin/m^3 die Eichkurve streng linear ansteigt, dann aber umbiegt und bei rd. 10.000 mg/m^3 ihren Höchstwert mit 68.000 Skalenteilen erreicht. Die bei höheren Konzentrationen wieder abfallende Intensität hat zwei Ursachen: zunehmende Absorption des anregenden Lichtstrahls und Konzentrationslöschung. Beim Untersuchen solcher hoher Konzentrationen, deren Fluoreszenzintensität möglicherweise zwei Punkten der Eichkurve zugeordnet werden kann, führt die Herstellung einer Verdünnung 1 : 10 am einfachsten zum Ziel. Die doppellogarithmische Darstellungsweise hat den Vorteil, sehr große Intensitäts- und Meßbereiche zu umfassen. Außerdem ist der relative Fehler an jeder Stelle der Kurve derselbe. Nachteilig hierbei ist aber die Unübersichtlichkeit bei kleinen Meßwerten. Reines Wasser (membranfiltriert) weist im Durchschnitt einen Nullwert von 0,9 Skalenteilen auf. Diese Konzentration Null ist eine Abszissenparallele durch den Punkt 0,9 auf der Ordinate, der sich der Eichkurve asymptotisch nähert. Besser ist bei niedrigen Konzentrationen eine lineare Eichkurve (Abb. 5) zu handhaben. Sie ist aber nicht auf

Meßwerte, sondern auf die Erhöhung der Ausschläge gegenüber dem Nullwert ausgerichtet. Dies ist notwendig, weil im niedrigen Konzentrationsbereich der jeweilig verschiedene Nullwert von Einfluß ist und gesondert berücksichtigt werden muß.

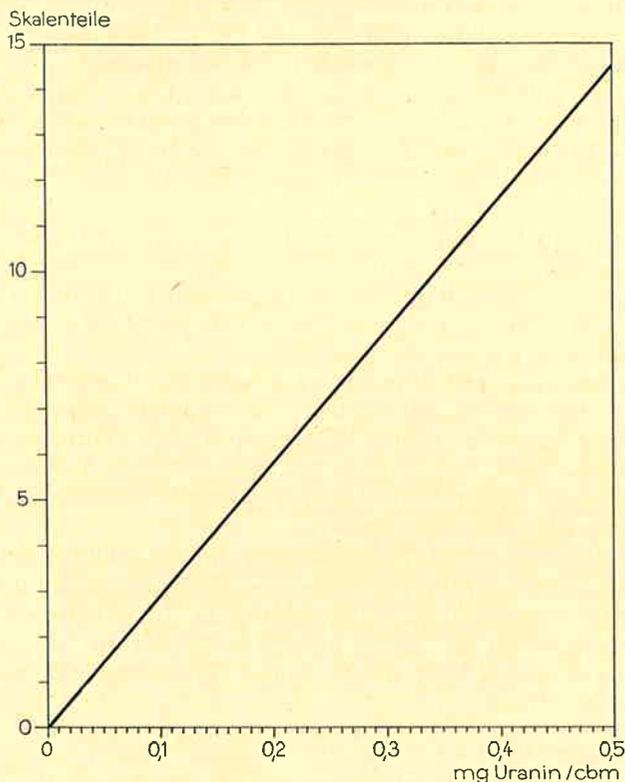


Abb. 5: Eichkurve im linearen Maßstab zwischen 0 und 0,5 mg Uranin/m³. Skalenteile (ST) als Netto-Ausschläge (Ablesung minus Nullwert).

C. Eigenschaften des Uranins und Störungen

Das von A. v. BAEYER (1871 a) entdeckte Fluoreszein wurde erstmals zur Untersuchung unterirdischer Gewässer von TEN BRINK und A. KNOP verwendet. Wenn auch der Karlsruher Geologe und Mineraloge Prof. KNOP die zunächst erfolglosen Färbversuche mit 14 kg Anilinrot sowie einen Salzungsversuch beschrieb (KNOP 1875), so

scheint doch der Anstoß für die Verwendung von alkalischer Fluoreszeinlösung bei der Untersuchung der Versickerungsverhältnisse an der Donau zwischen Immendingen und Tuttlingen von TEN BRINK in Völkertshausen an der Aach ausgegangen zu sein. Letzterer hatte als Weberei- und Spinnereibesitzer sicher Berührung mit Färbetechnik und Farbstoffen, und ihm war zur Sicherung seiner Wasserkraft an der Klärung des Aachzuflusses viel gelegen.

A. KNOP (1878) schreibt dazu wörtlich: „Um . . . sichere Bestätigung zu geben, führte Herr TEN BRINK den schönen, wenn auch kostspieligen Versuch aus, das Aachwasser . . . mit Fluoreszein zu färben.“

Am 9. Oktober 1877 um 16 Uhr wurden am rechten Donauufer unterhalb Immendingen am „Brühl“ in ein Schluckloch 10 kg Fluoreszein in natronalkalischer Lösung eingegeben. Nach rund 60 Stunden, am 12. Oktober vormittags, trat dann im 12 km entfernten Aachtopf die Farbe mit einer geschätzten Verdünnung von 1 : 40 Millionen (25 mg/m³) auf.

Noch im Jahr der Entdeckung schrieb A. BAEYER (1871 b), daß man zwar mit Fluoreszein Textilien färben könne, aber es sei weder ein schöner, noch ein „ächter“ Farbstoff. Wenige Jahre später schlug F. KRÜGER (1876) vor, wegen des schlagartigen Verlöschens der Fluoreszenz im sauren Bereich, Fluoreszein als Indikator bei Neutralisationstitionen zu verwenden.

Obenstehende kurze Hinweise auf die verhältnismäßig große Empfindlichkeit des Fluoreszeins gegenüber Säuren und Licht zeigen, daß bei der Farbstoffbestimmung mit einer Reihe von Störmöglichkeiten zu rechnen ist. Diese können entweder in der Natur des Fluoreszeins liegen oder durch äußere Einflüsse unabhängig vom Farbstoff auftreten.

Zur erstgenannten Gruppe der Störungen gehören:

- a) Abhängigkeit der Fluoreszenzausbeute vom pH-Wert,
- b) oxidative Einflüsse,
- c) Lichtzersetzung,
- d) Absorption von Farbstoff,
- e) Fluoreszenzlöschung.

Zur zweiten Gruppe zählen:

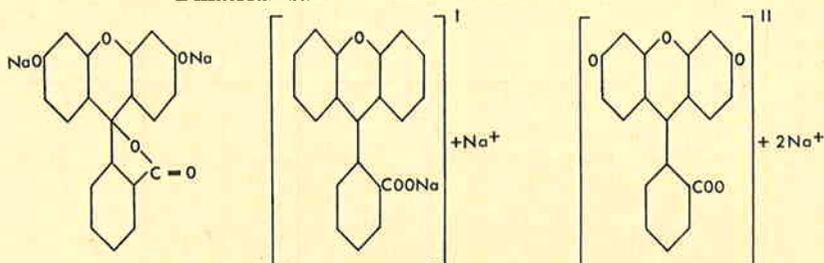
- f) Lichtstreuung,
- g) Auftreten fremder Fluoreszenzen.

Während die erste Gruppe der Störungen die Meßwerte erniedrigt, bringt die zweite eine Erhöhung.

a) Abhängigkeit der Fluoreszenz vom pH-Wert

Fluoreszein kann in mehreren tautomeren (= desmotropen) Formen auftreten. In festem Zustand liegt das rote Neutramolekül (Lakton) vor. In sauren Lösungen tritt es als Kation, in neutralen und alkalischen Lösungen als Anion auf (Th. FÖRSTER 1951). Nur das Anion ist fluoreszierend. Aus diesem Grund und wegen der besseren Löslichkeit in Wasser wird das Dinatriumsalz des Fluoreszeins (= Uranin) für Färbversuche verwendet. In konzentrierten Lösungen wird die Bildung des Anions verhindert; dies ist mit ein Grund, warum in höheren Konzentrationen die Fluoreszenz zurückgeht und die Lösungen rot erscheinen (s. Formeln).

Fluoreszein-Natrium $C_{20}H_{10}O_5Na_2$ = Uranin, Molekulargewicht: 376,154, Dinatriumsalz des Fluoreszeins $C_{20}H_{12}O_5$



Neutralmolekül (Lakton)
rot, nicht fluoreszierend

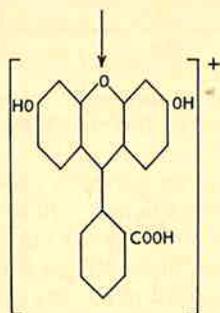
einwertiges Anion

zweiwertiges Anion
gelb, stark fluoreszierend

Kristall und nichtwässrige
Lösungen (z. B. Äther)

zunehmende Verdünnung neutra-
ler und alkalischer Lösungen →

stark saure Lösungen



einwertiges Kation
grünlich, nicht
fluoreszierend

Eine weitere tautomere Form des Fluoreszeins ist sein Kation, das nicht fluoresziert. Die Kurve in Abb. 6 zeigt, daß am Neutral-

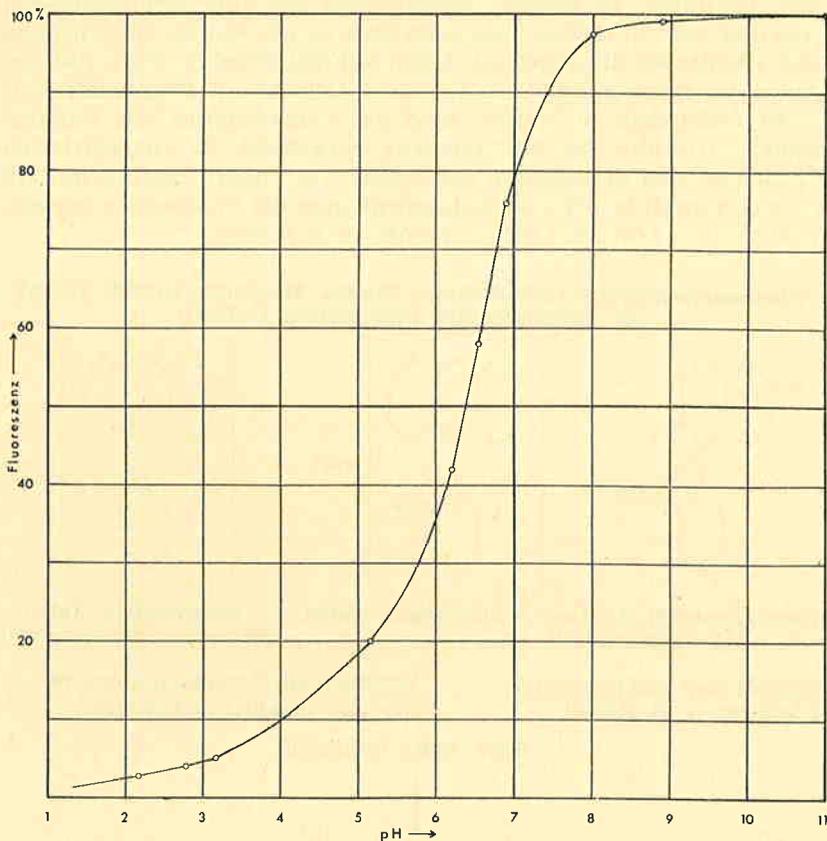


Abb. 6: Abhängigkeit der Fluoreszenz einer Lösung von 10 mg Uranin/m³ vom Säuregrad (pH-Wert) bei 515 nm.

punkt (pH = 7,0) 80% und in schwach alkalischem Gebiet bei pH = 9,0 schon 99% der größtmöglichen Fluoreszenz erreicht ist. Gegen das saure Gebiet fällt die Fluoreszenz stark ab, hört aber nicht ganz auf. Stark saure Lösungen, etwa 1%ige Salzsäure mit pH 0,7 weisen eine Fluoreszenz auf, die nur noch 2% der einer stark alkalischen Lösung entspricht. Entgegen anderen Beobachtern wird hier festgestellt, daß die spektrale Verteilung des Fluoreszenzlichtes unabhängig vom Säuregrad ist. Beispielsweise wurden an 100 ml einer

Lösung von 1000 mg Uranin/m³ nach Zusatz von 3 ml konzentrierter Salzsäure bei einem pH-Wert von 0,7 noch 2% der Ausgangsfluoreszenz gemessen, wobei das Maximum wie bei neutralen und alkalischen Lösungen bei 514 nm lag.

Durch Zusatz von OH-Ionen kann wieder das fluoreszierende Anion hervorgerufen werden. Es handelt sich bei dieser reversiblen Umwandlung wie bei den Farbstoffindikatoren, die zur Neutralisationstitation Verwendung finden (z. B. Methylorange, Lackmus, Phenolphthalein) um eine Anion-Kation-Tautomerie. In der Praxis ist hin und wieder damit zu rechnen, daß Färbversuche in sauren Wässern durchgeführt werden müssen, die die Gefahr in sich bergen, daß sie wegen der weitgehenden Unterdrückung der Fluoreszenz nicht gelingen. In Karstgebieten braucht man keine Sorge haben, daß dieser Störeinfluß sich auswirken könnte. Karstwässer weisen einen pH-Wert um 7 oder etwas darüber auf. Die in solchen Wässern vorkommende freie Kohlensäure steht immer im Gleichgewicht mit dem (Calcium-)Bikarbonat. Auch Grundwässer mit kalkigem Schottermaterial kann man bedenkenlos anfärben. Anders verhält es sich in einem kalkfreien Untergrund. Will man in Gebieten mit Sandsteinuntergrund oder im kristallinen Grundgebirge oder kalkfreien Kiesen und Sanden Färbversuche durchführen, ist eine chemische Voruntersuchung dieser Wässer notwendig. Die freie Kohlensäure ist hier im allgemeinen nicht genügend gepuffert und drückt den pH-Wert unter den Neutralpunkt. Beispielsweise haben reine Buntsandsteinwässer des Schwarzwaldes einen pH-Wert zwischen 6,1 und 6,8; während Grundgebirgswässer und Grundwässer aus kalkfreien Schottern mitunter auch pH-Werte unter 6 aufweisen.

Treten Humuswässer auf, kann die Wasserstoffionenkonzentration noch wesentlich höher werden. In humusreichen Wässern aus dem Granitgehängeschutt des Schwarzwaldes wurden schon pH-Werte bis herab zu 3,5 gemessen. Zu dem Umstand, daß die Fluoreszenz des Uranins in solchen Wässern bis auf geringe Bruchteile herabgedrückt wird, kommt noch erschwerend hinzu, daß Humusstoffe ebenfalls schwach grün fluoreszieren (siehe auch unter g).

Eine gewisse Abhilfe gegen den störenden Einfluß der Wasserstoffionen bietet die gleichzeitige Eingabe von Ätznatron an der Farbeingabestelle. Ein Millimol Ätznatron (40 mg) vermag nach der Gleichung $\text{NaOH} + \text{H}_2\text{CO}_3 = \text{NaHCO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ ebenfalls 1 Millimol CO_2 (44 mg) zu binden. Wenn man bei einem Wasser von 44 mg freier Kohlensäure je l (dies entspricht etwa dem Durchschnitt der Grundgebirgswässer des Schwarzwaldes) zur Farbeingabe gleichzeitig einen Sack technisches Ätznatron (50 kg) zusetzt, kann man damit rund

1250 m³ Wasser neutralisieren. Dies ist zwar für kleinere Versuche ausreichend, aber nicht mehr für umfangreichere. Im Falle eines Vorkommens von Moorwässern müßte noch erheblich mehr Ätznatron verwendet werden. Man alkalisiert in solchen Fällen zweckmäßigerweise das Wasser erst nach der Probenahme in den Probeflaschen. Dies wird am besten mit einem Tropfen konzentrierter Ammoniaklösung unmittelbar nach der Probenahme vorgenommen. Bei einem Laborversuch wurde eine Lösung von 10 mg U./m³ mit verdünnter Salzsäure drei Tage lang bei einem pH-Wert 4 gehalten und dann mit etwas konzentrierter Ammoniaklösung wieder alkalisch gemacht. Eine Messung am darauffolgenden Tag erbrachte noch einen Uranin-Gehalt von 8,4 mg Uranin/m³. Eine sofortige Messung nach dem Ammoniakzusatz wäre unzweckmäßig, da die Erdalkali-Karbonate in feinsten Verteilung ausfallen und selbst durch Membranfilter gehen, wo sie im Filtrat sehr stark störende Tyndall-Effekte hervorrufen würden. Zweckmäßigerweise wartet man nach dem Alkalizusatz einen Tag, bis die Karbonatausfällung gröber geworden ist und sich abgesetzt hat. Immerhin zeigt der Versuch, daß es möglich ist, Uranin in sauren Wässern zu verwenden und — wenn auch nicht vollkommen quantitativ — zu messen.

Zum Gebrauch der Eichkurve stehen zwei Wege offen:

1. Im allgemeinen wird eine annähernd quantitative Bestimmung genügen. Man stellt dann eine Eichkurve mit gewöhnlichem Leitungswasser her. Die von den Wasserwerken grundsätzlich entsäuerten Wässer besitzen einen gleichbleibenden pH-Wert, der um 7,0 oder etwas darüber liegt. Da die meisten Färbversuche in unserem Gebiet in Karstwässern mit einem ähnlichen pH-Wert vorgenommen werden, kann die so abgeleitete Eichkurve als gültig für diese Versuche angesehen werden.
2. Sind Untersuchungen an Wässern mit verschiedenem Säuregrad vorzunehmen, ist eine Umrechnung der abgeleiteten Werte erforderlich. Es ist dann zweckmäßig, die Eichwerte an alkalischen Lösungen zu messen, deren pH-Wert genau bekannt sein muß. Der Eichkurve sind dann Skalenwerte mit 100%iger Fluoreszenz zugrunde zu legen. Für jede Entnahmestelle ist dann auf Grund ihres durchschnittlichen pH-Wertes an Hand der Abb. 6 der Umrechnungsfaktor

$$X = \frac{100}{\% \text{ Fluoreszenz beim zugehörigen pH-Wert}} \quad \text{zu ermitteln, mit}$$

dem die aus der Eichkurve abgelegenen Uraninkonzentrationen multipliziert werden müssen.

b) Oxidierende Einflüsse

Stark oxidierende Zusätze zerstören das Fluoreszeinmolekül. In welche neue Verbindung das Fluoreszein dabei übergeht, ist nicht bekannt. Sicher ist, daß dieser Vorgang nicht rückgängig zu machen ist. Schwach oxidierende Lösungen, z. B. 0,5%iges Wasserstoffsperoxid blieben ohne Einfluß. Stärkere Oxidationsmittel, wie z. B. Chlor, Chlordioxid oder Ozon, die zur Entkeimung von Trinkwasser verwendet werden, beeinträchtigen in hohem Maß die Fluoreszenz.

Folgende Versuche wurden wiederum in neutraler Lösung mit einem Gehalt von 10 mg U./m³ vorgenommen:

I. Chlorgehalt in mg/l

50	nach 15 Sek. vollständig zerstört	50% Fluoreszenz	10% Fluoreszenz
10	nach 6 Sek.	nach 144 Sek.	nach 985 Sek. = 16,4 Minuten noch 1% Fluoreszenz
1,0	nach 36 Sek.	nach 400 Sek.	später nur noch langsam zurückgehend
0,5	nach 500 Sek.	später langsam abfallend	
0,05	nach 960 Sek.	nach Stehen über Nacht: 9% Fluoreszenz	

II. Chlordioxid- gehalt in mg/l

1,0	nach 9 Sek.	nach 22 Sek.	nach 60 Sek. noch 1,7% Fluoreszenz
0,5	nach 11 Sek.	nach 96 Sek.	nach 210 Sek. noch 5% Fluoreszenz
0,1	nach 21 Sek. 90%	nach 120 Sek.	nach 85%, später nicht weiter zurückgehend

Erwähnenswert ist die Beobachtung, daß in alkalischen Lösungen keine oxidative Zersetzung des Fluoreszeins eintritt.

Aus obiger Zusammenstellung ist zu ersehen, daß Chlor- und Chlordioxidmengen, wie sie zur Trinkwasserbehandlung in Wasserwerken angewandt werden (bis 5 mg/l), sicher zu einer raschen Zerstörung des Färbemittels führen. Ferner geht aus den Versuchen hervor, daß zwar Chlordioxid rascher angreift, bei Chlor aber die Zerstörung vollkommener ist.

Auch bei der Verwendung von Ozonierungsanlagen ist mit einer vollständigen Zerstörung von Uranin zu rechnen, wie unser Versuch in Oberndorf (G. SCHULZ 1961) gezeigt hat. Dort wurde nachgewiesen, daß Wasser mit einem Farbstoffgehalt von 125 mg U./m³ nach der Ozonbehandlung vollkommen frei von Farbstoff war.

Die Umsetzung von Fluoreszein-Farbstoff mit stark oxidierenden Mitteln hat für Färbversuche Folgerungen, die in nachstehenden Punkten zusammengefaßt sind:

1. Wasserproben zur Uraninbestimmung, die bei Trinkwasserfassungen entnommen werden, müssen vor der Chlorungs- oder Ozonierungsanlage gezapft werden.
2. Wasserversorgungsanlagen mit Chlorungs- oder Ozonierungseinrichtungen brauchen beim Auftreten von Uranin nicht stillgelegt werden, da im aufbereiteten Wasser keine Färbung mehr zu erkennen sein wird.
3. Bei Grundwasseranreicherungen, wo gechlorte Oberflächenwässer in den Untergrund eingeleitet werden, kann eingegebener Farbstoff zum großen Teil zerstört werden. Hier empfiehlt es sich, den Farbstoff im festen Zustand schlagartig einzugeben, damit im Moment der Eingabe ein großer Farbstoffüberschuß vorhanden ist.

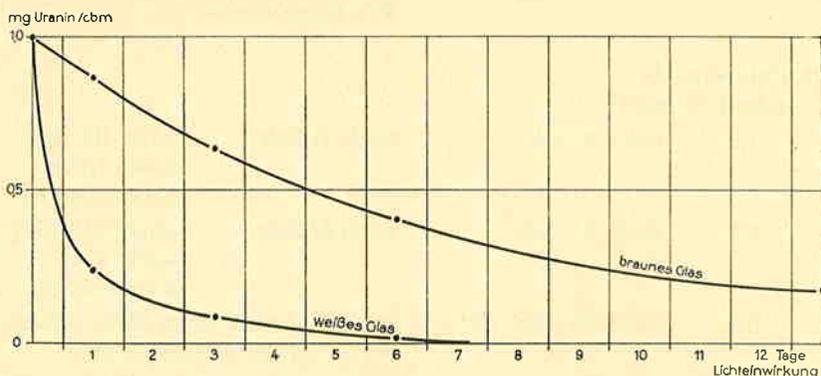


Abb. 7: Uraninzerstörung durch Lichteinwirkung auf Lösungen (1 mg U./m³) in braunen und farblosen 2-l-Glasflaschen über mehrere Tage auf ostseitigem Fensterbrett.

c) Lichtzersetzung

Den Einfluß von Licht auf Uranin kann man leicht erkennen, wenn man nicht zu kräftige Lösungen aufbewahrt. Zur Zersetzung ist nicht einmal Sonnenlicht notwendig. Abb. 7 veranschaulicht den Rückgang der Farbe, wenn Lösungen mit einem Gehalt von 1 mg U./m^3 über mehrere Tage in einer braunen und in einer farblosen Flasche auf einem ostseitigen Fensterbrett dem Tageslicht ausgesetzt werden. Der Versuch wurde im November unternommen, als wechselhaftes, meist bedecktes Wetter herrschte. In der farblosen Flasche war der Farbstoff nach einer Woche Lichteinfluß praktisch völlig zerstört, während nach derselben Zeit in der braunen noch rund ein Drittel des ursprünglichen Gehaltes nachzuweisen war.

Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu den Beobachtungen von E. SHOTTON & A. HABEEB (1955), die Lösungen von 10.000, 100.000 und 1.000.000 mg Fluoreszein/ m^3 , jeweils 14 Tage lang sowohl im Sonnenlicht als auch im Dunkeln aufbewahrten und **keine** Abnahme feststellten. Möglicherweise ist bei solch hohen Konzentrationen der Lichteinfluß für eine meßbare Wirkung zu gering, da hier schon geringe Schichtdicken genügen, um die wirksamen Wellenlängen zu absorbieren. Bei Färbversuchen kommen überdies höhere Gehalte als 1000 mg U./m^3 äußerst selten vor, so daß die Versuche von E. SHOTTON & A. HABEEB ohne Wert für die Praxis sind. Aus dem gleichen Grund muß ihr Versuch über die Beständigkeit obiger Konzentrationen bei 80stündigem Kochen mit Vorbehalt aufgenommen werden.

Aus dem Verhalten verdünnter Uranin-Lösungen im Licht folgt, daß Wasserproben, die im Zusammenhang mit Färbversuchen genommen werden, unbedingt in braune Flaschen abzufüllen sind und im Dunkeln aufbewahrt werden müssen. Wegen ihrer Empfindlichkeit gegenüber Licht und wegen der leichten Meßbarkeit könnten verdünnte Uranin-Lösungen als Lichtmengenmesser möglicherweise Anwendung finden.

d) Absorption von Farbstoff an Tonmineralien

Vielerorts trifft man auf Vorurteile bei der Anwendung von Uranin als Markierungsmittel für Wässer, die mergelige, tonige oder schluffige Schichten durchlaufen. Es wird befürchtet, daß der Farbstoff von Tonmineralien absorbiert werden würde und das Ergebnis von solchen Färbversuchen von vornherein in Frage zu stellen ist. Obwohl neuerdings auch erfolgreiche Versuche im Keupermergel-Hangschutt ausgeführt wurden, sind noch Laborversuche zur weiteren Untersuchung dieser Frage unternommen

worden. Dazu wurde jeweils ein Liter einer Lösung von 10 mg U./m^3 mit

200 g Keupermergel (Ziegeleigrube W Schwenningen)

200 g Kaolin

5 g Clarsol (techn. Bentonit für Tiefbohrspülungen)

(alle Stoffe bei 105° C getrocknet) zwei Stunden lang geschüttelt und nach zweitägigem Absetzen im Dunkeln gemessen. Das Ergebnis war überraschend; beim Keupermergel stieg die Uraninkonzentration von 10,0 auf 11,6, beim Kaolin auf 10,5 an; nur beim Clarsol blieb sie bei $10,0 \text{ mg U./m}^3$, wohl wegen der geringen angewandten Menge. (Bei mehr als 5 g Bentonit auf ein Liter Wasser erhält man eine thixotrope Mischung, die sich nicht absetzt und die sich weder filtrieren noch abzentrifugieren läßt.)

Zur Erklärung dieser Erscheinung ist anzunehmen, daß Tone eher Wasser als Farbstoff aufnehmen und daher die relative Uraninkonzentration zunehmen muß. Die Unbedenklichkeit bei der Verwendung von Uranin in tonreichen Gesteinen ist damit erwiesen.

e) Fluoreszenzlöschung

Oft ist man gezwungen, im Einzugsgebiet eines Wasservorkommens mehrere Eingabestellen gleichzeitig mit verschiedenen Markierungsstoffen zu versetzen. Man könnte große Kosten sparen, wenn es möglich wäre, die Markierungsstoffe in einer Wasserprobe nebeneinander nachzuweisen. Salze (NaCl , KCl , LiCl) stören die Nachweisbarkeit von Uranin nicht; erst hohe Chlorid-Konzentrationen, wie sie aber praktisch kaum vorkommen, drücken die Fluoreszenz des Uranins herab. Es ist aber nicht möglich, andere fluoreszierende Stoffe, z. B. Eosin, mitzuverwenden. In Lösungen, die Uranin und Eosin nebeneinander enthalten, tritt die sogenannte Fluoreszenzlöschung ein, d. h. angeregte Moleküle, die bei normalen Bedingungen unter Aussendung von Fluoreszenz-Photonen in den Grundzustand übergehen, geben ihre Energie an den anderen fluoreszierenden Körper ohne Lichtaussendung ab. Das Absorptionsspektrum beider Stoffe bleibt hiervon jedoch unberührt. Bei einem Versuch wurden Lösungen von jeweils 10 mg Uranin/m^3 mit verschiedenen Eosin-Gehalten hergestellt und die Fluoreszenz bei 515 nm gemessen:

1. bei gleichgroßem Eosin-Gehalt, also 10 mg E./m^3 , war die Fluoreszenzlöschung vollständig;
2. bei einem Eosin-Gehalt von 1 mg/m^3 , also Uranin- zu Eosinkonzentration = $10 : 1$, betrug die Fluoreszenz noch rund ein Drittel (genau: einer Lösung von $3,1 \text{ mg Uranin/m}^3$ entsprechend).

Die Halbwertskonzentration, d. h. diejenige Konzentration des

Zusatzes, bei der die Fluoreszenz auf die Hälfte zurückgegangen ist, liegt bei der untersuchten Uranin-Konzentration bei rund $0,7 \text{ mg Eosin/m}^3 = 7\%$ des Uranins.

Es wurde weiterhin festgestellt, daß auch die Fluoreszenz des zugesetzten Eosins (Maximum bei $550 \text{ nm} = \text{orange}$) gelöscht wird. Beide Fluoreszenz-Farbstoffe sind also als Markierungsmittel nebeneinander nicht verwendbar. Wohl aber wäre ihre gemeinsame Bestimmung durch Absorptionsmessung möglich.

f) Lichtstreuung

Jeder Körper, auch der scheinbar klarste, streut Licht, das durch ihn hindurchgeht. Dieses Streulicht ist um so stärker, je mehr Trübstoffe in ihm enthalten sind. Insbesondere Tontrüben, die zumeist nach Regenfällen in Wässern auftreten, können die Fluoreszenzmessungen beeinträchtigen. Aber auch reduzierende Wässer, bei denen durch Luftberührung kolloides Eisenoxidhydrat ausfällt, sowie Moorwässer mit Humussäure-Solen stören; letztere außerdem durch eigene grüne Fluoreszenz (siehe auch unter g).

Eigentlich wäre anzunehmen, daß das anregende Licht, welches in unveränderter spektraler Zusammensetzung gestreut wird, keine Störung verursachen wird, da das Spektrometer auf eine andere Wellenlänge eingestellt ist. Daß trotzdem meßbare Einflüsse vorhanden sind, ist folgendermaßen zu erklären: Einmal läßt jedes Anregungsfilter noch Reste der anregenden Lichtquelle bei der Wellenlänge des Fluoreszenzlichtes hindurch, zumal die Energie des Wolframlichtes bei 515 nm wesentlich größer ist als bei 460 nm . Zum anderen läßt das Spektrometer in ganz geringem Maß Streulicht von anderer als der eingestellten Wellenlänge hindurch, verursacht durch die geringe Streuung an den Linsen- und Prismenoberflächen sowie durch Beugung an den Spaltkanten. Um einer Störung durch Lichtstreuung zu begegnen, ist es am zweckmäßigsten, die Wasserproben vor der Messung zu filtrieren. Das Ultrazentrifugieren der Wasserproben, wie es von anderer Seite vorgeschlagen wird, ist zu zeitraubend, auch dürfte nicht jedes Wasserlaboratorium eine Ultrazentrifuge besitzen. Einfacher ist die Filtration mit Membranfilter, beispielsweise der Gruppe 16 = mittlerer Porendurchmesser $0,2 \text{ Mikron}$ (Hersteller: MEMBRANFILTER-GESSELLSCHAFT, Göttingen). Als Filterunterlage im Filterapparat nehme man am zweckmäßigsten eine randverschmolzene Glasritze G 0 mit 9 cm Durchmesser. Zur Filtration von 100 ml benötigt man dann höchstens eine Minute. Bei verhältnismäßig reinen Wässern kann man einen Filter mindestens 100mal benützen, bevor die Durchlaufzeiten zu lang werden. So behandelte reine Wässer weisen

in der eingangs beschriebenen Apparatezusammenstellung einen Ausschlag von 0,9 Skalenteile auf. Doppelt destilliertes Wasser und Wasser, die wiederholt filtriert wurden, ergeben noch 0,5 Skalenteile. Ursache für Lichtstreuung bei frisch filtrierten natürlichen Wässern ist wohl der Ausfall von feinstem Calcium-Karbonat, da im Vakuum des Filtrierapparates die zugehörige Kohlensäure teilweise abgesaugt wird. Eine Zugabe von einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure läßt nämlich des Streulicht auf 0,5 Skalenteile zurückgehen und bekräftigt dadurch obige Annahme. Bei stärker getrüben Wässern können die Ausschläge bis auf 2,5 Skalenteile, mit Abwässeranteilen noch höher hinaufgehen. Dadurch kann schon mit Hilfe des Blindwertes über die Wassergüte eine Aussage gemacht werden. Bemerkenswert sei noch, daß frisch eingelegte Membranfilter ebenfalls erhöhte Werte ergeben und erst nach drei bis vier Filtrationen keine Trübungen durch Staub oder sonstige Verunreinigungen mehr abgeben.

Die Lichtstreuung an kleinen Teilchen (Tyndall-Effekt) ist um so größer, je kleiner die Wellenlänge des gestreuten Lichtes ist. Nach RAYLEIGH ist sie umgekehrt proportional der 4. Potenz der Wellenlänge. Rechnerisch ist sie bei der Hg-Linie 365 nm 1,7mal größer als bei 460 nm. Schon aus diesem Grund soll zur Fluoreszenzanregung möglichst langwelliges Licht Verwendung finden; eine Forderung, die der Zunahme der Fluoreszenzausbeute gegen das Absorptionsmaximum entgegenkommt.

Stärker getrübe Wasser läßt man vorteilhafterweise nach der Einlieferung erst über Nacht absitzen, bevor sie untersucht werden. Zur Filtration entnimmt man den Fläschchen am besten mit einer Pipette die erforderliche Wassermenge, ohne die abgesetzte Trübe aufzurühren.

Fluoreszenzlicht ist nicht oder nur unwesentlich, Streulicht dagegen senkrecht zum einfallenden Strahl polarisiert. F. DIENERT (1909) schlug vor, das RAYLEIGH'sche Streulicht mittels Polarisationsprisma weitgehend zu unterdrücken, was auch in oben beschriebener Anordnung verhältnismäßig einfach bewerkstelligt werden könnte. Hier wurde jedoch auf diese Möglichkeit aus zwei Gründen verzichtet:

1. kann durch nahezu optimale Anregungsbedingungen der Streulichtanteil sehr gering gehalten werden;
2. sollte durch Polarisation die an sich nicht sehr lichtstarke Anregung nicht weiter geschmälert werden.

Vielleicht kann eine solche Einrichtung Verwendung finden, wenn eine stärkere Anregung zur Verfügung steht.

Eine andere Art der Lichtstreuung ist der RAMAN-Effekt, der unter Umständen bei der Anregung mit der Quecksilber-Linie

436 nm eine Störung bewirkt. Die RAMAN-Linien erscheinen im Spektrum des gestreuten Lichtes abzüglich (= stokes'sche) oder zuzüglich (= antistokes'sche RAMAN-Linien) der Valenzschwingungsenergie des streuenden Mittels. Beim Wasser (O-H-Bindung) entspricht diese Schwingungsenergie einer Wellenzahl von 3500/cm: Wenn eine Einstrahlung bei 436 nm erfolgt, müßte eine RAMAN-Linie bei 515 nm liegen (Wellenzahl $23.000 - 3500 = 19.500/\text{cm}$), was genau dem Fluoreszenzmaximum von Uranin entspricht! Mit einem Fluoreszenzzusatz zum Spektralphotometer ist es nicht schwierig, den RAMAN-Effekt zu zeigen: Strahlt man in eine Küvette mit bidestilliertem Wasser die ausgefilterte Quecksilberlinie 436 nm ein und untersucht das Streulicht, findet man eine RAMAN-Linie bei 509 nm. Bei einer Spaltbreite von 0,5 mm beträgt hier der Ausschlag 76, bei der Wellenlänge des Uranin-Fluoreszenzmaximums noch 64 Skalenteile. Eine Umrechnung der Wellenzahlen ergibt für die O-H-Bindung im Wasser eine Valenzschwingungszahl von 3300/cm (für die Hg-Linie 365 nm wurden 3250 cm bestimmt). Mit einer Anregung durch die Wolframlampe läßt sich der RAMAN-Effekt nicht nachweisen; die Strahlung ist spektral zu breit und der Effekt zu gering, um sich noch vom Streulicht abzuheben.

g) Fremde Fluoreszenzen

Neben den lichtstreuenden Stoffen können noch Stoffe im Wasser vorkommen, die durch ihre Fluoreszenz eine Erhöhung der Meßwerte hervorrufen. Viele Badesalze erhalten als Farbstoff Fluoreszein; so kann durch häusliche Abwässer schon unter Umständen eine Störung von Färbversuchen auftreten. Fälle von solchen Störungen sind jedoch bisher noch nicht bekannt geworden.

Größer sind die Störungen durch Humusstoffe, die an vielen Stellen, oft sogar an unvorhergesehenen, in den Untergrund eintreten können. Da in allen Gebieten mit mehr oder weniger humushaltigen Wässern gerechnet werden muß, wurden ihre Eigenschaften näher untersucht. Dazu wurde aus dem Hochmoor östlich Hinterzarten/Landkreis Neustadt (Hochschwarzwald) eine Wasserprobe entnommen, die schon wegen ihres braunen Aussehens auf einen hohen Gehalt organischer Substanz schließen ließ. Der Permanganatverbrauch betrug 470 mg/l, der durch Bichromat oxidierbare Gehalt an organischer Substanz 246 mg/l; der pH-Wert wurde mit der Glaselektrode zu 5,4 bestimmt. Dieses Moorwasser zeigte sich bei der Prüfung auf Fluoreszenz verhältnismäßig stark gelbgrün fluoreszierend (Anregung mit dem R-46-Filter). Bei der Messung der spektralen Verteilung der Fluoreszenzstrahlung ergab sich ein verhältnismäßig breiter Spektralbereich mit einem flachen Maximum

bei 528 nm. Bei 515 nm wurden noch 72 Skalenteile gemessen. Zum Vergleich erbrachte das Anregungsfilter M 436 demgegenüber 396 Skalenteile, d. h. das Intensitätsverhältnis beträgt 1 : 5,5. Wenn man dagegen die Anregungsverhältnisse mit diesen beiden Filtern beim Uranin betrachtet (vgl. unter B), erhält man hierfür ein Anregungsverhältnis von 30 : 106 Skalenteilen oder 1 : 2,8. Dies bedeutet, daß die Anregungsbedingungen beim Übergang vom Filter 436 zum Filter R 46 für fluoreszierende Humusstoffe im Vergleich zum Uranin wesentlich verschlechtert sind, ganz in Übereinstimmung mit der von längeren nach kürzeren Wellenlängen ganz langsam ansteigenden und erst im kurzwelligen UV-Gebiet ein breites Maximum einnehmenden Absorption. Zur Unterscheidung von Uranin säuert man den Küvetteninhalt mit drei Tropfen konzentrierter Salzsäure an. Geht hierbei die Fluoreszenz — die man am besten noch zusätzlich mit dem Auge beobachtet — zurück, so handelt es sich um Uranin. Ein geringer Rückgang der Ausschläge beruht im allgemeinen auf der Auflösung von Kalk, der beim Absaugen ausgefallen war. Bleibt die Fluoreszenz auch in saurer Lösung bestehen, liegen höchstwahrscheinlich Humusstoffe vor.

Treffen Humusstoffe und Uranin im Wasser zusammen, ist an sich mit der Erscheinung der Fluoreszenzlöschung zu rechnen (siehe unter e). Zur Untersuchung dieser Frage wurden 90 ml Moorwasser und 10 ml einer Uraninlösung von 10 mg Uranin/m³ vermischt. Die zu erwartende Fluoreszenz wurde auf 62,9 Skalenteile berechnet; tatsächlich wurden 62,6 Skalenteile gemessen! Dies liegt innerhalb der Meßgenauigkeit und beweist, daß eine Beeinträchtigung durch Fluoreszenzlöschung nicht eintritt.

Uranin wurde in Anlehnung an die ähnliche Fluoreszenzfarbe von Uranlösungen so benannt; ihre Intensität ist jedoch wesentlich geringer. Eine Uranyl-Acetatlösung mit 100 mg UO₂ · 1 = 100.000 mg/m³ ergab einen Ausschlag bei 515 nm von 105 Skalenteilen (Maximum bei 522 nm mit 111 Skalenteilen). Unter denselben Bedingungen fluoresziert also das Uranylion 28.500mal schwächer als Uranin. Da in den Grundwässern zwar Uran vorkommt, der Gehalt von 4 mg Uran/m³ auch in Grundgebirgswässern nur selten überschritten wird, ist von dieser Seite keine Störung möglich.

Weitere fluoreszierende Stoffe können ins Wasser durch Abwässer mit Waschmitteln gelangen. Den modernen Waschmitteln sind ausnahmslos optische Aufheller zugesetzt, die vorwiegend das ultraviolette Licht absorbieren und bläulichweiß fluoreszieren. Durch das Filter R 46 werden solche Fluoreszenzfarbstoffe nur noch in geringem Maße angeregt. Eine Lösung von 10 mg/l dieses Farbstoffes ergab bei 515 nm einen Ausschlag von 3,4 Skalenteilen,

d. h. nur eine Erhöhung von weniger als drei Skalenteilen. Auch hier gilt wie beim Huminsäureeinfluß die Regel, daß die Störung um so geringer ist, je länger die Anregungswellenlänge ist.

Ölemulsionen und Spuren von gelöstem Öl im Wasser bzw. deren lösliche Anteile zeigen uncharakteristische Fluoreszenzen (W. GANDENBERGER & E. OEHLER 1963). Normalerweise ist mit solchen Einflüssen nicht zu rechnen. Aber bei Färbversuchen, die im Zusammenhang mit „Ölunfällen“ unternommen werden, müssen sie berücksichtigt und unter Umständen in Kauf genommen werden.

Grüne Fluoreszenzen unbekannter Art wurden in einigen Fällen in Karstwässern beobachtet. Es handelt sich wahrscheinlich um organische Stoffe, die vielleicht infolge Kalkauflösung durch Kohlensäure in das Wasser gelangten. Versuchsweise wurden einige Brocken eines rezenten Kalktuffmaterials gemahlen, gequirlt und membranfiltriert; das Filtrat zeigte eine kräftige grüne Fluoreszenz (76 Skalenteile) mit einem Maximum bei 513 nm, die sich jedoch im Gegensatz zum Uranin als säurebeständig erwies. Der Peranganatverbrauch der membranfiltrierten Lösung betrug 48,7 mg/l und zeigt, daß sich im Wasser organische Substanzen befinden müssen. Zum Glück kommen diese Fälle nur sehr selten vor und treten dann in solch geringem Maß in Erscheinung, die einer Uraninkonzentration von höchstens 0,1 mg/m³ entsprechen.

D. Erfassungsgrenzen

Durch Absorptionsmessung beim Hauptabsorptionsmaximum 489,2 nm ist es möglich, einige Störungen, z. B. die Konzentrations- und Fluoreszenzlöschungen, zu umgehen. Allerdings sind hierbei andere Einflüsse, namentlich die Trübungen, erheblich größer.

Eine Lösung von 100 mg Uranin/m³ besitzt eine Extinktion von 0,074 (= 16,0% Absorption), wenn 50-mm-Küvetten verwendet werden. Mit einem verhältnismäßig sauberen Karstwasser der Schwäbischen Alb (Uracher Wasserfall) wurden an zehn aufeinanderfolgenden Tagen die Extinktionen, außerdem die Ausschläge bei der Fluoreszenzmessung bestimmt:

Juli 1964	Extinktion (50 mm)	Ausschläge bei der Fluoreszenzmessung (ST)
17.	0,0017	1,4
18.	0,0008	1,3
19.	0,0015	1,3
20.	0,0015	1,3

Juli 1964	Extinktion (50 mm)	Ausschläge bei der Fluoreszenz- messung (ST)
21.	0,0012	1,3
22.	0,0008	1,4
23.	0,0005	1,4
24.	0,0008	1,4
25.	0,0008	1,4
26.	0,0002	1,5

Zu bemerken ist, daß über die Entnahmezeit im betreffenden Einzugsgebiet keine Regenfälle zu verzeichnen waren und daß die Entnahme außerhalb des Einflusses eines Färbversuches stand. Die Probenreihe ist also geeignet, die natürlichen Schwankungen bei der Extinktions- und Fluoreszenzmessung unter den Bedingungen eines Färbversuches zu untersuchen. Wie bei den Färbversuchen wurden die Proben in braunen 250-ml-Glasflaschen mit Schraubverschluß im Dunkeln aufbewahrt und dann gemeinsam in das Laboratorium zur Untersuchung gebracht.

Die Schwankungen sind bei den Extinktionen wesentlich größer als bei der Fluoreszenzmessung. Solch kleine Extinktionen sind an sich schwierig zu messen, denn eine Extinktion von 0,001 entspricht einer Durchlässigkeit von 99,77% oder einer Absorption von nur 0,23%. Beim Ablesen so kleiner Unterschiede spielt beim Ausschlagverfahren (G. KORTÜM 1955) die Galvanometerunruhe eine wesentlich größere Rolle als beim hier nicht verwendeten Substitutionsverfahren. Zweifellos könnte noch eine Genauigkeitssteigerung durch Benützung längerer Rohrküvetten erzielt werden, doch müssen dann jeweils größere Wassermengen als 250 ml zur Verfügung stehen.

Aus obigen Zahlenreihen lassen sich nun für beide Verfahren die Erfassungsgrenzen nach der Fehlerrechnung ermitteln (H. KAISER & H. SPECKER 1956):

	Absorptions- messung (Extinktion)	Fluoreszenz- messung (Skalenteile)
Arithmetisches Mittel	0,00098	1,357
Statistischer Fehler s (= Standardabweichung)	$\pm 0,000474$	$\pm 0,0675$
3-sigma-Vertrauensbereich	+0,00142	+0,203
Nachweisgrenze	1,88 mg U./m ³	0,0061 mg U./m ³

Der 3-sigma-Vertrauensbereich, der besagt, daß nur jede 300. Messung falsch sein möge, gilt allgemein als Maßstab für die Genauigkeit einer Methode und für deren Anwendbarkeit an der unteren Grenzkonzentration. Im oben gewählten Beispiel ist der Nachweis von Uranin durch Fluoreszenz 310mal empfindlicher als durch Absorptionsmessung. Für ein Karstwasser mittleren Reinheitsgrades kann man nach obigen Überlegungen mit einer Nachweisempfindlichkeit von (aufgerundet)

$$0,01 \text{ mg U./m}^3$$

rechnen, was einer Verdünnung von $1 : 10^{-11}$ entspricht.

Ein weiteres Beispiel möge veranschaulichen, wenn Spuren von Uranin bei einem Färbversuch auftreten. Zur Untersuchung der Abflußverhältnisse bei der Abwasserversickerung Ohnastetten/Landkreis Reutlingen (Schwäbische Alb) wurden rund 300 m südsüdöstlich der Ortsmitte am 19. Mai 1964 zwischen 17.15 und 17.30 Uhr 5 kg Uranin zur Versickerung gebracht. Die Farbe trat — zum größten Teil sichtbar — in Quellen des westsüdwestlich von Ohnastetten gelegenen oberen Echaztales wieder aus. Eine kleine Quelle im Zellertal (ein kleines Nebental der Echaz) im Nordwesten von Ohnastetten wurde ebenfalls in die Beobachtung miteinbezogen (Entfernung 2,5 km). Bei der Messung zeigte sich eine wesentliche Erhöhung der Ausschläge zwischen dem 22. Mai, 20.00 Uhr, und dem 23. Mai, 11.30 Uhr:

Entnahmetag	Zeit	Ausschläge	mg U./m ³
20. 5.	17.00	1,4	0
21. 5.	17.00	1,5	0
21. 5.	19.00	1,4	0
22. 5.	6.00	1,5	0
22. 5.	11.45	1,4	0
22. 5.	20.00	2,1	0,024
23. 5.	6.00	2,0	0,015 \
23. 5.	11.30	1,7	0,010
23. 5.	20.00	1,4	0
24. 5.	6.45	1,4	0

Unter Berücksichtigung der Schüttung von 8—10 l/sec läßt sich graphisch ermitteln, daß hier etwa 12,8 mg Uranin oder 0,00025‰ = 1/400.000 der eingegebenen Uraninmenge ausgetreten sind. Voraussetzung für die sichere Bewertung solch kleiner Uranin-Konzentrationen ist allerdings die Entnahme einer genügenden Anzahl von „Blindproben“ vor dem Eintreffen der Farbe. Im vorliegenden

Fall ist die Schwankung des Blindwertes gering, deshalb sind zwar fünf Blindproben ausreichend, aber an der unteren Grenzzahl.

Daß aus solchen Ergebnissen weitgehende hydrologische Folgerungen zu ziehen sind, liegt auf der Hand.

E. Zusammenfassung

Es wurde ein Weg aufgezeigt, der es ermöglicht, bei Färbversuchen in kurzer Zeit mit wirtschaftlichem Aufwand eine größere Probenzahl auf Uranin zu untersuchen. Eingehende Versuche über die optimalen Anregungsbedingungen der Fluoreszenz ergaben, daß ein Licht zur Anregung verwendet werden sollte, das eine Wellenlänge möglichst nahe am Absorptionsmaximum von 489,2 nm aufweist. Die Darlegungen über das Verhalten von Uranin und über die möglichen Störeinflüsse sollen dazu dienen, die Uranin-Konzentration quantitativ zu bestimmen. Mit der beschriebenen Apparatur ist es möglich, unter günstigen Voraussetzungen noch 0,01 mg Uranin/m³ unmittelbar zu erfassen. Sinngemäß können auch andere Spektralphotometer sowie Filterphotometer, Fluorometer und Kolorimeter für die Uraninbestimmung umgerüstet werden. Es wird auf einige Fälle beschränkter Verwendungsmöglichkeiten von Uranin hingewiesen.

Über praktische Erfahrungen bei Färbversuchen sowie über die Verwertung der quantitativen Messungen wird später berichtet werden.

F. Schrifttum

- v. BAEYER, A.: Über eine neue Klasse von Farbstoffen. Ber. D. Chem. Ges. Berlin, 4, 555—558, 1871 a.
v. BAEYER, A.: Über die Phenolfarbstoffe. Ber. D. Chem. Ges. Berlin, 4, 658—665, 1871 b.
DIENERT, F.: Des matières fluorescentes contenues dans les eaux. Bull. Soc. Chim. France, 5, 326—332, 1909.
FÖRSTER, Th.: Fluoreszenz organischer Verbindungen. 312 S., 81 Abb., Göttingen 1951.
GANDENBERGER, W., & OEHLER, E.: Verölung von Oberflächenwasser und seine Aufbereitung in Wasserwerken. Schriftenreihe des Deutschen Arbeitskreises Wasserforschung e.V. (DAW), Heft 1, 62 S., Berlin-Bielefeld-München 1963.
KAISER, H., & SPECKER, H.: Bewertung und Vergleich von Analyseverfahren. Z. anal. Ch., 149, 46—66, 1956.
KLATTE, O. J.: Eine verbesserte Methode des Uraninnachweises im Grundwasser. Arch. Hygiene Bakteriologie, 146, 98—107, 1962.

- KNOP, A.: Über die hydrographischen Beziehungen zwischen der Donau und der Aachquelle im Badischen Oberlande. N. Jb. Min. **1875**, S. 942 bis 958, 1875. — N. Jb. Min. **1878**, S. 350—363, 1878.
- KORTÜM, G.: Kolorimetrie, Photometrie und Spektrometrie. 458 S., Springer Verlag, Berlin-Göttingen, Heidelberg 1958.
- KRÜGER, F.: Fluoreszein als Indikator beim Titrieren. Ber. D. Chem. Ges. Berlin, **9**, 1572, 1876.
- SCHULZ, G.: Erprobung verschiedener Markierungsstoffe für unterirdische Wässer bei Oberndorf am Neckar. Jh. geol. Landesamt Baden-Württemberg, **5**, 323—341, Freiburg i. Br. 1961.
- SHOTTON, E, & HABEED, A. F. S. A.: The Estimation of Fluorescein in dilute Solutions. J. Pharmacy Pharmacol., **7**, 456—462, London 1955. — Ref. auch bei H. POHL: Über die Bestimmung von Fluoreszein in verdünnten Lösungen. Z. anal. Ch., **150**, 436/437, 1956.

Anschrift des Verfassers:

Diplomgeologe Dr. WERNER KÄSS, Geologisches Landesamt
in Baden-Württemberg
78 Freiburg i. Br., Albertstraße 5