

422 – Optische Spektroskopie

Ziele

- Aufbau und Funktionsweise von Spektrometern erläutern
- Lichtquellen anhand ihres Spektrums charakterisieren
- Absorptions- und Transmissionsspektren qualitativ diskutieren
- das Lambert-Beer-Gesetz erklären und experimentell überprüfen
- experimentelle Bestimmung des molaren Extinktionskoeffizienten, des Extinktionsquerschnitts und der Konzentration eines gelösten Stoffes

1 Aufgaben

- 1.1 Beschreiben Sie die Spektren einer Halogen-, Quecksilberdampf- und Leuchtstofflampe! Untersuchen Sie die spektrale Auflösung des USB650-Spektrometers!
- 1.2 Diskutieren Sie die Transmissionsspektren von drei verschiedenen Farbfiltern!
- 1.3 Überprüfen Sie das Lambert-Beer-Gesetz!
- 1.4 Bestimmen Sie den molaren Extinktionskoeffizienten und den Extinktionsquerschnitt von Methylblau! Erklären Sie mit Hilfe des Absorptionsspektrums die Farbe der Methylblau-Lösung!
- 1.5 Bestimmen Sie die Konzentration von Methylblau in einer Methylblau-Lösung!

2 Grundlagen

Stichworte: Absorption, Streuung, Extinktion, Extinktionskoeffizient, -querschnitt, Transmission, Spektrum, Spektrometer, Beugungsgitter, Auflösungsvermögen, Lambert-Beer-Gesetz

2.1 Optische Spektroskopie

Der Begriff Spektroskopie setzt sich aus dem lateinischen *spectrum* für „Bild“ und dem griechischen *skopein* für „ansehen“ zusammen [1]. Optische Spektroskopie ist die Gesamtheit aller qualitativen und quantitativen Messmethoden und Analyseverfahren, die auf Wechselwirkungen von Licht mit Materie beruhen [2]. Das Vorwort „optisch“ und der Begriff „Licht“ umfassen dabei den Wellenlängenbereich vom fernen UV-, über den sichtbaren, bis hin zum nahen IR-Bereich. Sichtbar ist der Wellenlängenbereich von 400 nm bis

800 nm. Die Messgeräte der optischen Spektroskopie sind u. a. die sogenannten Spektrometer, die Spektren mit einer geeichten Wellenlängenskala aufnehmen. Als Spektrum bezeichnet man den Zusammenhang einer photometrischen Größe (z. B. Intensität) mit der Wellenlänge.

Die Spektroskopie findet Anwendung in der Physik, Chemie und Biologie. Ihre Methoden eignen sich, um bestimmte Materialeigenschaften wie Bindungsenergie, chemische Zusammensetzung, Struktur oder optische Dichte zu bestimmen, welche meistens mit dem spezifischen Zustand einer Substanz korreliert sind. Große Bedeutung kommt der optischen Spektroskopie innerhalb der Farbstoffanalytik zu. Allen voran werden Absorptions-, Transmissions- oder Reflexionsmessungen vorgenommen.

2.2 Lichterzeugung und -detektion

Licht kann durch Elektronenübergängen in Atomen und Molekülen (Lumineszenzstrahler) oder durch das Aufheizen von Materie (Temperaturstrahler) erzeugt werden. Bei Temperaturstrahlern oszillieren die Gitteratome des Feststoffes aufgrund hoher Temperaturen, werden somit beschleunigt und strahlen Energie ab. Das kontinuierliche Beschleunigen impliziert ein kontinuierliches Spektrum. Solche Lichtquellen sind beispielsweise Glühlampen, in welchen ein sehr dünner Wolfram-Draht von elektrischem Strom durchflossen wird und somit zu glühen beginnt. Damit der Draht nicht sofort verbrennt, muss er unter Einschluss in einem Glaskolben vor Sauerstoff geschützt werden. Beim Glühen verdampft stückweise Wolfram und kondensiert wieder an der Kolbeninnenwand. Durch die Zugabe eines Halogens wird dieser Prozess teilweise rückgängig gemacht und die Lebensdauer erhöht.

Dagegen gehören Dampfdrucklampen zu den Lumineszenzstrahlern. Als Lumineszenz bezeichnet man die Freisetzung von Lichtquanten durch Rekombination angeregter Elektronen. Aufgrund der diskreten Energieniveaus von Atomen können diese nur diskrete Energien abstrahlen, wodurch ein für jedes Atom spezifisches Linienspektrum erzeugt wird. Konkret werden bei Gasentladungslampen Elektronen von einer Glühkathode emittiert und zur Anode hin beschleunigt. Auf ihrem Weg stoßen sie mit den Gasatomen zusammen und ionisieren diese. Bei Rekombination der ionisierten Atome wird anschließend Energie freigesetzt [3].

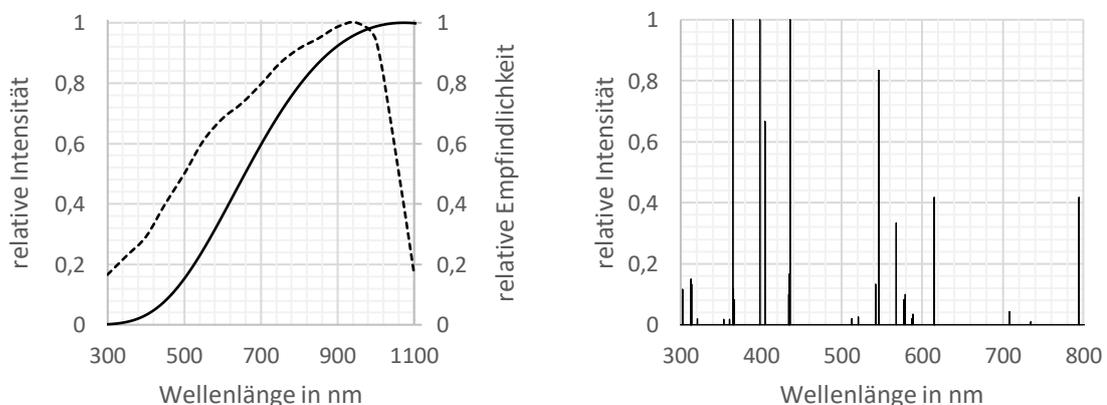


Bild 1 Theoretische Spektren einer Halogen-Glühlampe (links), einer Quecksilberdampf-lampe (rechts) und die spektrale Empfindlichkeit eines Silizium-Detektors (gestrichelt) [2], [4]

Im Sinne der Spektroskopie soll Licht detektiert werden. Dafür nutzt man verschiedene physikalische Effekte aus. Wir beschränken uns hier auf den inneren Photoeffekt: Fallen Lichtquanten auf einen Halbleiter, so werden Elektronen vom Valenz- in das Leitungsband gehoben. Dadurch erhöht sich die Anzahl der freien Ladungsträger. Die Änderung der Leitfähigkeit spiegelt sich auch in der Änderung des Widerstandes des Materials wieder, was elektronisch sichtbar gemacht werden kann. Die Photonen müssen dabei eine Mindestenergie besitzen bzw. dürfen eine obere Grenze der Wellenlänge nicht überschreiten, damit der innere Photoeffekt eintreten kann. Die spektrale Empfindlichkeit der zu detektierenden Strahlung hängt mit dem Halbleitermaterial zusammen. Beispielsweise wird Silizium (Si) in einem Wellenlängenbereich von 200 nm bis 1100 nm genutzt und hat eine maximale Empfindlichkeit bei ca. 950 nm. Durch das Nebeneinandersetzen mehrere solcher Photodetektoren, wird eine sogenannte Detektorzeile (CCD-Detektor) erzeugt [2].

2.3 Lichtschwächung beim Durchgang durch Stoffe

Die Intensität von Licht nimmt beim Durchgang durch einen Stoff ab. Ursache dafür sind:

1. die Streuung (Ablenkung eines Teils des gerichteten Energieflusses der Lichtwelle aus der Einfallrichtung) und
2. die Absorption (Umwandlung von Licht- in Wärmeenergie)

des Lichts an den Teilchen des durchstrahlten Stoffes. Die Gesamtheit dieser Lichtschwächung wird Extinktion genannt. Weiterhin kommt es zu Reflexionsverlusten an den Grenzflächen, die von den Brechzahlen der Medien und dem Strahlengang abhängig sind. An der Grenzfläche Luft/Glas kommt es beispielsweise zu einem Intensitätsverlust von 4 %. Bei quantitativen Messungen muss dieser Effekt zwingend beachtet und am besten durch den Vergleich mit einer Referenzprobe korrigiert werden.

Unsere eigentliche Aufmerksamkeit gilt hier der Absorption. Genau wie bei der Lichterzeugung hängt die Absorption vom Aufbau der Elektronenhüllen der beteiligten Atome ab. Dabei können mittels des eingestrahlt Lichts nur bestimmte Energieübergänge angeregt werden. Wegen $E = h \cdot \nu$ (E ... Energie des Photons, h ... Plancksches Wirkungsquantum, ν ... Frequenz der Lichtwelle) ist jedem Übergang eindeutig eine Frequenz zugeordnet und die Absorption eines Stoffes somit in charakteristischer Weise frequenzabhängig. In diesem Versuch haben wir es vor allem mit Bandenspektren, quasi einer Folge von sehr eng zusammenliegenden Spektrallinien zu tun, wie sie für Farbstoffe charakteristisch sind. Es werden dabei ganze Bereiche des sichtbaren Spektrums geschwächt, dafür andere kaum bzw. gar nicht, wodurch sich eine bestimmte Färbung des Stoffes ergibt.

Farbfilter kommen dort zum Einsatz, wo nur ein kleiner wellenlängenbegrenzter Teil des Spektrums (eine Farbe) benötigt wird. Durch die selektive Absorption im optischen Spektralbereich erscheinen uns die Filter farbig. Farbfilter haben z. B. in der digitalen Fotografie eine große Bedeutung. Typische CCD-Kameradetektoren besitzen eine Sensitivität über den gesamten optischen Spektralbereich und darüber hinaus. Um Farbinformationen in einem Bild festzuhalten, werden auf dem Chip naheliegende CCD-Pixel mosaikartig mit verschiedenen Farbfiltern (z. B. rot, grün, blau) versehen, so dass ein Bild zeitgleich in drei Farben aufgenommen wird. Das Ergebnisbild entsteht durch Farbinformationsinterpolation aus den benachbarten Pixeln.

2.4 Lambert-Beer-Gesetz

Bouguer (1729) und Lambert (1760) fanden heraus, dass die Schwächung der Lichtintensität dI beim Durchlaufen eines klaren Mediums proportional zur jeweiligen Intensität I und Schichtdicke dx ist. Führt man als Proportionalitätsfaktor den sogenannten Extinktionskoeffizienten $\kappa(\lambda)$ ein, so folgt

$$dI = -\kappa(\lambda) I dx \quad . \quad (1)$$

Weiterhin wurde von Beer (1852) gezeigt, dass für absorbierende Lösungen der Extinktionskoeffizient proportional zur Konzentration c des jeweiligen Stoffes ist. Führt man auch hier einen Proportionalitätsfaktor $\epsilon(\lambda)$ mit $\kappa = \epsilon \cdot c$ ein, so folgt mit Gl. (1) nach Integration über die gesamte Probendicke d das Bouguer-Lambert-Beer-Gesetz (meist nur Lambert-Beer-Gesetz) der Form:

$$I = I_0 e^{-\epsilon(\lambda)cd} \quad , \quad (2)$$

wobei I_0 die Intensität des noch nicht absorbierten (eingestrahnten) Lichts ist. Als Transmissionsgrad (kurz: Transmission)

$$T = \frac{I}{I_0} = e^{-E} \quad (3)$$

wird das Verhältnis von durchgelassener zur einfallender Lichtintensität definiert. Die Maßzahl

$$E(\lambda) = \kappa(\lambda) \cdot d = \epsilon(\lambda) \cdot c \cdot d \quad (4)$$

wird als Extinktion, ϵ als molarer Extinktionskoeffizient mit $[\epsilon] = \text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ bezeichnet. Während in der Chemie üblicherweise der molare Extinktionskoeffizient zur Charakterisierung der Absorption eines Stoffes verwendet wird, nutzt man in der Physik die modellhafte Vorstellung eines Absorptionsquerschnitts $q(\lambda)$ (genauer: Extinktionsquerschnitt) mit $[q] = \text{cm}^2$. Dieser Absorptionsquerschnitt kann sich zwar für eine erste anschauliche Betrachtung als geometrische Fläche vorgestellt werden, ist jedoch ein Wirkungsquerschnitt. Bei Farbmolekülen liegt er in der Größenordnung 10^{-16} cm^2 . Erweitert man Gl. (4) mit der Avogadro-Konstanten N_A

$$E(\lambda) = \frac{\epsilon(\lambda)}{N_A} \cdot N_A c \cdot d = q(\lambda) \cdot n \cdot d \quad (5)$$

so ergibt sich der Extinktionsquerschnitt $q(\lambda) = \epsilon(\lambda)/N_A$ und die Zahl der absorbierten Moleküle pro Volumen (Moleküldichte) $n = N_A c$.

2.5 USB650-Spektrometer

In diesem Versuch verwenden wir das kommerzielle Red Tide USB650-Spektrometer. In diesem Spektrometer sind alle verbauten optischen Komponenten fest montiert. Das durch eine Probe transmittierte Licht wird mittels Lichtleitkabel in das Spektrometer eingekoppelt (1), wo zunächst ein Eintrittsspalt (2) angebracht ist. Der Eintrittsfilter (3) begrenzt das Licht auf einen Wellenlängenbereich von 350 bis 1000 nm, welches dann mit einem Hohl-

spiegel (4) auf ein Reflexionsgitter mit 600 Linien pro mm kollimiert wird. Durch Beugung und Interferenz am Gitter erfolgt eine spektrale Aufspaltung der Strahlung, wovon die erste Beugungsordnung über einen weiteren Hohlspiegel (6) und viele kleine Sammellinsen (7) auf die 2048 Detektorelemente des linearen Silizium-CCD-Detektors (8) fokussiert wird. Das Spektrometer hat 650 *enabled Pixels* und kann einen Peak mit einer Halbwertsbreite von rund 2 nm auflösen. Damit ist das erste Pixel für die Wellenlänge 350 nm, das zweite für 351 nm und so fort bis 1000 nm, zuständig. Die Anzahl der Pixel bestimmt also die spektrale Auflösung des USB650-Spektrometers und ist gleichzeitig Namensgeber. Zwischen Linsen und Detektor sind Filter zur Unterdrückung von Licht der zweiten und dritten Beugungsordnung (9) sowie von Streulicht (10) angebracht. Da jedes Element des Detektors einer bestimmten Wellenlänge entspricht, wird zum einen kein Austrittsspalt, wie bei einem Monochromator üblich, benötigt und zum anderen das gesamte Spektrum zeitgleich aufgenommen. Die Detektorelemente erzeugen jeweils ein, dem absorbierten Licht proportionales, elektrisches Signal, welches mit einem 12-bit-AD-Wandler digitalisiert und an den Computer via USB2.0-Kabel übermittelt wird. Das Spektrometer ist photometrisch nicht kalibriert und gibt daher die Intensität in *Counts* an. Bei 400 nm entsprechen 75 Photonen einem Count. Der Detektor sättigt ab 4095 Counts. Damit photometrische Messungen vorgenommen werden können, muss ein *Zwei-Messungen-Verfahren* (Vergleich von Proben mit Referenzmessung) durchgeführt werden [5] [6] [7].

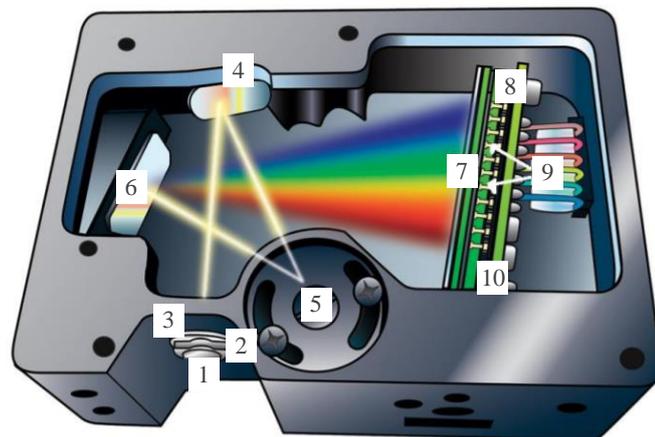


Bild 2 Aufbau des USB650-Spektrometers [6]

3 Versuchsdurchführung

3.0 Messanordnung und -verfahren

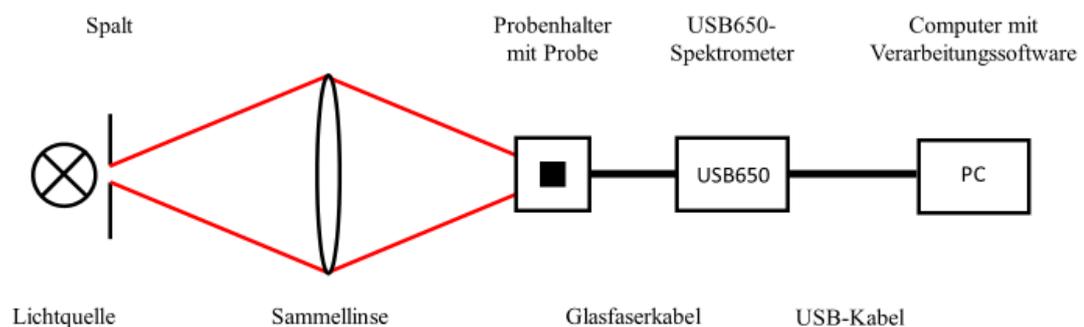


Bild 3 Prinzipieller Versuchsaufbau für Absorptions- und Transmissionsmessungen

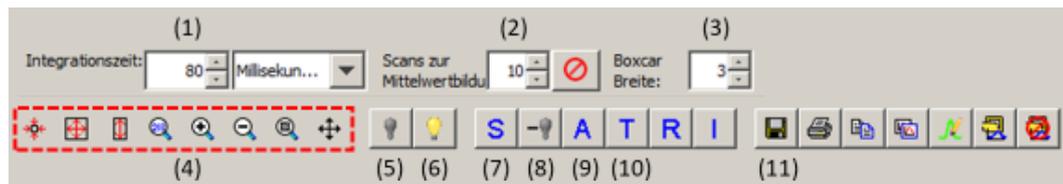


Bild 4 Einige Bedienelemente der Software SpectraSuite

Der prinzipielle Versuchsaufbau ist in Bild 3 dargestellt. Als Lichtquelle wird eine Halogenlampe verwendet. Spalt und Linse ($f = 150 \text{ mm}$) dienen zur Strahlführung. Über die Versorgungsspannung, die Spaltbreite und die Linsenposition kann die Intensität der auf die Messprobe fallenden Strahlung variiert werden. Das Licht durchläuft die Probe im Probenhalter, wird in ein Lichtleitkabel eingekoppelt und zum USB650-Spektrometer geführt. Via USB-Verbindung zum Computer können dann im Programm *SpectraSuite* die Messdaten ausgelesen, ausgewertet und exportiert werden. Im Modus *Scope* (7) wird stets der aktuelle Scan angezeigt. Die Absorptions- bzw. Transmissionsmessung erfolgt in folgenden Schritten:

1. Zunächst wird die Halogenlampe eingeschaltet und ca. 5 min gewartet, bis sie im thermischen Gleichgewicht zu ihrer Umgebung steht. Über die Einstellungen Integrationszeit (1), Scans pro Mittelwert (2) und Boxcar-Breite (3) wird ein rauschfreies Spektrum mit einer maximalen Intensität zwischen 3500 bis 4000 Counts eingestellt.
2. Nun wird der Glasfasereingang durch vollständiges Versperren des Küvettenhalters abgedeckt (dazu liegt ein Quader bereit) und das Dunkelspektrum $D(\lambda)$ aufgenommen (5). Dieses wird von den weiteren Spektren subtrahiert (8).
3. Das Referenzspektrum $I_0(\lambda)$ wird aufgenommen (6), indem die Abdeckung wieder entfernt und die gewünschte Referenzprobe in den Probenhalter eingesetzt wird. Eine nun folgende Absorptions- oder Transmissionsmessung ist nur in einem Wellenlängenbereich sinnvoll, in welchem das Referenzspektrum eine noch ausreichende Intensität aufweist. Es ist daher möglich, die grafische Ausgabe mittels Zoom-Funktion (4) auf einen (passenden) Wellenlängenbereich zu beschränken.
4. Messmodus:
 - a. Die Absorptionsmessung (9) wird ausgewählt und die Untersuchungsprobe in den Küvettenhalter eingesetzt. Das Programm misst das aktuelle Spektrum $I(\lambda)$ und gibt das (dekadische) Extinktionsspektrum

$$E'(\lambda) = -\log \frac{I(\lambda) - D(\lambda)}{I_0(\lambda) - D(\lambda)}$$

grafisch und tabellarisch aus.

Bitte beachten: In der messtechnischen Praxis verwendet man häufig die dekadische Extinktion E' . Damit ändert sich Gl. (3) zu

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-E'} \quad . \quad (6)$$

Die dekadische Extinktion E' ist also um den Faktor $\ln 10$ kleiner als die natürliche Extinktion E , d. h.

$$E = E' \cdot \ln 10 \quad . \quad (7)$$

- b. Die Transmissionsmessung (10) wird ausgewählt und die Untersuchungsprobe in den Küvettenhalter eingesetzt. Das Programm misst das aktuelle Spektrum $I(\lambda)$ und gibt das Transmissionspektrum

$$T = \frac{I(\lambda) - D(\lambda)}{I_0(\lambda) - D(\lambda)}$$

grafisch oder tabellarisch aus.

5. Nach der Datenerfassung wird diese gestoppt und die Daten gespeichert (11).

3.1 Lichtquellen und spektrale Auflösung des Spektrometers

Die Spektren der drei verschiedenen Lichtquellen werden im Modus *Scope* aufgenommen. Halogen- und Quecksilberdampfampe werden dazu auf der optischen Schiene montiert. Für die Messung der Leuchtstoffröhre wird das Glasfaserkabel am Probenhalter abgeschraubt und direkt in Richtung der Deckenlampe gehalten. Vorsicht: Berühren Sie das Glasfaserkabel nicht an dessen Öffnung, um Verschmutzungen zu vermeiden. Begründen Sie, warum sich die Halogenlampe am besten für optische Spektroskopie eignet! Um die spektrale Auflösung des Spektrometers zu untersuchen, werden die Emissionslinien des Quecksilbers betrachtet. Überlegen Sie sich im Vorfeld, welche Emissionslinien dafür geeignet sind.

3.2 Transmissionspektren verschiedener Farbfilter

Der grüne, rote bzw. blaue Farbfilter wird in den Probenhalter eingesetzt und das Transmissionspektrum aufgenommen. Wie ist der visuelle Eindruck? Was ist zu beobachten, wenn zwei verschiedene Farbfilter hintereinander eingesetzt werden? Hier muss ggf. die Zoom-Funktion verwendet werden.

3.3 Lambert-Beer-Gesetz

Um das Lambert-Beer-Gesetz zu überprüfen, werden grüne Farbfilter in den Probenhalter aneinandergereiht und jeweils das Transmissionsmaximum gemessen. Durch die Anzahl der Filter wird die Probendicke variiert. Die Transmission soll dann in Abhängigkeit der Dicke grafisch dargestellt werden.

3.4 Molarer Extinktionskoeffizient und -querschnitt

Zur Bestimmung des molaren Extinktionskoeffizienten ϵ , sowie des Extinktionsquerschnitts q werden die Extinktionen $E'(\lambda_{max})$ von Methylblau-Lösungen beim der Wellenlänge λ_{max} maximaler Absorption mit verschiedenen bekannten Konzentrationen c gemessen. Die Extinktion ist in Abhängigkeit der Konzentration grafisch darzustellen und die gesuchten Größen mittels linearer Regression und Gl. (4) bzw. (5) zu ermitteln. Vergleichen Sie den Extinktionsquerschnitt mit der Größe eines Moleküls!

3.5 Konzentrationsbestimmung

Die Extinktion einer Methylblau-Lösung unbekannter Konzentration wird gemessen. Die Konzentration kann dann über das Diagramm aus der vorherigen Aufgabe bestimmt werden. Wie viel Milligramm des Farbstoffes wurden in einem Liter Wasser gelöst?

3.6 Hinweise zur Versuchsdurchführung

- Alle Messungen sind auf dem PC als txt-Datei zu speichern. Bringen Sie sich einen **USB-Stick** für den Datentransfer mit.
- Unter *Ansicht > Graph Optionen > sichtbares Spektrum* können die zum Spektrum entsprechenden Farben (Farbverläufe) angezeigt werden.
- **Die Farbfilter bitte nur mit Pinzette, die Küvetten bitte nur am oberen Ende berühren, um Fingerabdrücke zu vermeiden.**
- Messen Sie die Dicke der Farbfilter nur am oberen bzw. unteren Ende, um Kratzer zu vermeiden.
- Die spektrale Auflösung des USB650-Spektrometers verschlechtert sich, wenn die Boxcar-Breite erhöht wird, da so über benachbarte Pixel gemittelt wird.
- Reflexionsverluste an den Küvetten müssen bei der Messung nicht beachtet werden, da sie durch das *Zwei-Messungen-Verfahren* mathematisch eliminiert werden.
- Bei erheblicher Veränderung der Integrationszeit sollte das Dunkelspektrum neu aufgenommen werden, da sich dieses leicht mitverändert.
- Um Messfehler zu minimieren, ist es ratsam ...
 - große Einstrahlintensitäten zu verwenden.
 - in Bereichen mittlerer Extinktionen ($E' = 0,200 \dots 1,500$) zu messen.
 - die Referenzmessung vor jeder Probenmessung zu wiederholen, da die Intensität der Halogenlampe leicht zeitabhängig ist.
- Der relative Fehler der Extinktion hängt vom Fehler der Referenzintensität und der Extinktion selbst ab. Bei optimalen Einstellungen (50 ... 100 Scans pro Messwert, Boxcar-Breite von 2 ... 3) kann ein absoluter Fehler von $\Delta E' = 0,001 \dots 0,003$ angenommen werden.

Rekapitulationsfragen

1. Was ist optische Spektroskopie?
2. Wie sind prinzipiell Spektrometer aufgebaut? Wie kann Licht spektral zerlegt werden?
3. Wie kann Licht erzeugt werden? Wie werden Photonen detektiert?
4. Was ist Extinktion? Was besagt der Extinktionskoeffizient? Was ist ein Extinktionsquerschnitt?
5. Was ist ein Spektrum? Wodurch entsteht unser Farbeindruck? Welcher Wellenlängenbereich ist für den Menschen sichtbar?
6. Was besagt das Lambert-Beer-Gesetz und wie kann man es experimentell überprüfen?
7. Wie kann der molare Extinktionsquerschnitt eines Stoffes bestimmt werden?
8. Warum können wir bei den Messungen die Reflexionsverluste ignorieren?

Literatur

- [1] P. M. Skrabal, *Spektroskopie: Eine methodenübergreifende Darstellung vom UV- bis zum NMR-Bereich*, 1. Aufl., Zürich: vdf Hochschulverlag, 2009.
- [2] **W. Schmidt, *Optische Spektroskopie: Eine Einführung*, 2. Aufl., Weinheim [u. a.]: WILEY-VCH, 2000.**
- [3] F. L. Pedrotti, *Optik: Eine Einführung*, 1. Aufl., München [u. a.]: Prentice Hall, 1996.
- [4] National Institute of Standards and Technology , „Basic Atomic Spectroscopic Data,“ n.d.. [Online]. Verfügbar unter: <https://physics.nist.gov/PhysRefData/Handbook/Tables/mercurytable2.htm>. [Zugriff am 30. Juni 2018].
- [5] Ocean Optics, „Products,“ n.d.. [Online]. Verfügbar unter: <https://oceanoptics.com/product/usb-650-red-tide-spectrometers/>. [Zugriff am 13. Juni 2018].
- [6] Ocean Optics, „Red Tide USB650 Fiber Optic Spectrometer: Installation and Operation Manual,“ 2009. [Online]. Verfügbar unter: <http://oceanoptics.com/wp-content/uploads/USB-650-Red-Tide-Installation-and-Operation-Instructions.pdf>. [Zugriff am 15. Juni 2018].
- [7] Ocean Optics, „USB-650 Red Tide Spectrometers,“ n.d.. [Online]. Verfügbar unter: <https://oceanoptics.com/product/usb-650-red-tide-spectrometers/>. [Zugriff am 15. Juni 2018].