

1 Aufgabenstellung

1. Messung der relativen Transmission (%T) von Lösungen eines organischen Farbstoffes (Beispiel: Kristallviolett) unterschiedlicher Konzentration im Wellenlängenbereich 400–700 nm mit einem kommerziellen UV/VIS-Zweistrahl-Spektrometer.
2. Ermittlung des molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten im Maximum der Photoabsorption des Farbstoffes ε aus der Analyse der Messdaten.
3. Graphische Darstellung der Funktion $\varepsilon = f(\lambda)$ für den Farbstoff.

2 Grundlagen

1. Durchläuft monochromatisches Licht in einem homogenen Medium eine Strecke der (infinitesimalen) Dicke dL , so nimmt längs dieser Strecke die Intensität von I auf $I - dI$ ab. Die Änderung dI ist proportional der vor dem Durchlaufen der Strecke vorhandenen Lichtintensität (wenn mehr Licht vorhanden ist, wird auch mehr Absorption stattfinden), der Schichtdicke dL , sowie der Konzentration c des Absorbers. Die Proportionalitätskonstante wird ε genannt:

$$-dI = \varepsilon \cdot I \cdot c \cdot dL.$$

2. Unter gewissen Voraussetzungen ist ε ausschließlich eine Funktion der Natur des Absorbermoleküls und der Wellenlänge der monochromatischen Strahlung. Zu diesen Voraussetzungen gehört, dass die Wahrscheinlichkeit für eine Photoabsorption für jedes Absorbermolekül gleich groß ist. Insbesondere ist dann ε nicht selbst eine Funktion von c . *Dann und nur dann* lässt sich die Gleichung leicht längs der gesamten Schichtdicke L integrieren:

$$\frac{dI}{I} = -\varepsilon \cdot c \cdot dL$$

$$\int_{I_{L=0}}^{I_{L=L'}} \frac{dI}{I} = - \int_{L=0}^{L=L'} \varepsilon \cdot c \cdot dL$$

Mit $\frac{dI}{I} = d \ln I$ erhält man:

$$\ln \frac{I_{L=0}}{I_{L=L'}} = \varepsilon \cdot c \cdot L'$$

Für die Gesamtlänge L_{max} der Küvette ergibt sich dementsprechend:

$$\ln \frac{I_{L=0}}{I_{L=L_{max}}} = \varepsilon \cdot c \cdot L_{max}$$

oder entlogarithmiert:

$$I_{L=L_{max}} = I_{L=0} \cdot \exp(-\varepsilon \cdot c \cdot L)$$

Ersetzt man noch den natürlichen Logarithmus durch den dekadischen, so erhält man das Lambert-Beersche Gesetz:

$$\log \frac{I_{L=0}}{I_{L=L_{max}}} = \varepsilon_{10} \cdot c \cdot L_{max}$$

mit $\varepsilon_{10} = \varepsilon \cdot \log 10 \approx \varepsilon \cdot 0,43429(\dots)$

3. In einer mit einem Lösemittel gefüllten Küvette im Strahlengang eines Spektrometers bezieht sich $I_{L=0}$ auf die Lichtintensität $I_{L=0}$ auf der Innenseite der eintrittsseitigen Küvettenwandung, an deren Begrenzungsflächen Re-

flektionsverluste stattfinden. Diese Reflektionsverluste sind besonders dann beträchtlich, wenn die Küvettenwandungen nicht senkrecht zur Einstrahlrichtung stehen. Ebenso treten Verluste an der austrittsseitigen Küvettenwandung auf, hinter der sich der Lichtdetektor befindet. Weitere Verluste können durch Streuung und Absorption seitens des Lösemittels auftreten.

Die Messung der Intensität $I_{L=0}$ ist demnach experimentell nicht ohne weiteres zugänglich. Daher muss das Lambert-Beer-Gesetz in einer modifizierten Form verwendet werden, die den Verlusten durch die Küvette Rechnung trägt.

4. Man verwendet in der Messpraxis *zwei* einander möglichst gleiche Küvetten (angepasstes Paar), die Probenküvette und eine Referenzküvette. Die Referenzküvette wird mit dem Solvens gefüllt, aber nicht mit der zu messenden Substanz. Es kommt also darauf an, dass sich die Referenzküvette von der Probenküvette ausschließlich durch die Abwesenheit der Messsubstanz unterscheidet.

Es wird nun die Intensität *hinter* der jeweiligen Küvette als Funktion der Wellenlänge gemessen. Wenn beide Küvetten einander tatsächlich gleich sind, kommt die zusätzliche Schwächung in der Probenküvette *ausschließlich* durch die Probensubstanz zu Stande.

In modernen Zweistrahlenspektrometern werden die Spektren von Proben- und Referenzküvette simultan gemessen. Man erhält eine relative Transmission „%T“:

$$\%T = \frac{I}{I_0} \cdot 100.$$

Hierin ist I die Intensität der Probenküvette und I_0 die Intensität hinter der Referenzküvette.

5. Da angepasste Küvettenpaare sehr teuer sind und die Qualität der Anpassung im Laufe der Zeit nachlässt, gehen wir im Praktikum wie folgt vor:
 - a) Wir füllen eine Referenzküvette K_0 und eine Probeküvette K_1 zunächst beide nur mit dem Lösemittel und messen die relative Transmission %T. Dies liefert eine Transmission $\frac{I_{\text{leer}}}{I_0}$. I_{leer} ist die Intensität hinter lee-

ren, d.h. nur mit Lösemittel gefüllten Probeküvette K₁. Da die Küvetten nicht angepasst sind, erhält man von 100% abweichende Zahlenwerte. Die Intensitäten sind nicht identisch.

- b) Wir belassen die Referenzküvette K₀ im Referenzstrahlengang, entnehmen und entleeren K₁ und befüllen K₁ nachfolgend mit der im Lösemittel gelösten Messsubstanz. Wiederum wird die relative Transmission gemessen. Auf diese Weise erhalten wir die Transmission $\frac{I_{\text{Substanz}}}{I_0}$.
- c) Teilen wir diese beiden Transmissionen $\frac{I_{\text{leer}}}{I_0}$ und $\frac{I_{\text{Substanz}}}{I_0}$ durcheinander, so kürzt sich I_0 heraus und wir erhalten $\frac{I_{\text{leer}}}{I_{\text{Substanz}}}$ (der Faktor 100 kürzt sich ebenfalls heraus).

Bei diesem Verfahren kommt es darauf an, für alle Konzentrationen immer wieder dieselbe Küvette K₁ zu verwenden.

3 Experimenteller Aufbau

Verwendete Geräte

1. Spektrophotometer JASCO V-750
2. Messrechner (PC, USB-Schnittstelle zu Spektrometer)
3. Standard-Plastik-Küvetten aus PMMA, Füllvolumen 2,5 mL, Wegstrecke $L = 10$ mm.

Verwendete Chemikalien

1. Ethanol (Solvens)
2. Ein in Ethanol löslicher organischer Farbstoff, beispielsweise Kristallviolett, Malachitgrün, Bromthymolblau, Eosin o.ä.

Durchführung

1. Stellen Sie 100 mL einer $1,00 \cdot 10^{-4}$ -M ethanolischen Lösung von Kristallviolett her (Stammlösung 1)
2. Stellen Sie hieraus 100 mL einer $1,00 \cdot 10^{-5}$ -M ethanolischen Lösung von Kristallviolett her (Stammlösung 2).
3. Stellen Sie aus den Stammlösungen die folgenden Lösungen her (jeweils 10 mL):
 - a) $1,00 \cdot 10^{-6}$ -M,
 - b) $3,00 \cdot 10^{-6}$ -M,
 - c) $5,00 \cdot 10^{-6}$ -M,
 - d) $8,00 \cdot 10^{-6}$ -M,
 - e) $1,50 \cdot 10^{-5}$ -M,
 - f) $3,00 \cdot 10^{-5}$ -M,
 - g) $5,00 \cdot 10^{-5}$ -M,
 - h) $8,00 \cdot 10^{-5}$ -M,
4. Ermitteln Sie die relative Transmission (%T) zweier mit reinem Ethanol gefüllter Küvetten K_0 (Referenzküvette) und K_1 (Probeküvette).
5. Für alle nachfolgenden Messungen verbleibt K_0 im Referenzstrahl. K_0 wird nicht mehr angefasst, bis alle Messungen beendet sind.
6. Messen Sie %T aller oben angegebener Konzentrationen von Kristallviolett. Nutzen Sie stets dieselbe Küvette K_1 . Die Befüllung mit einer neuen Konzentration muss dreimal hintereinander erfolgen, um die vorherige Konzentration vollstündig zu entfernen. Die Küvette darf nicht mit einem Papiertuch o. ä. gereinigt/getrocknet werden, um Kratzer zu vermeiden.

7. Schließen Sie eine Messung mit einer Wiederholung der Messung mit reinem Ethanol ab.
8. Exportieren Sie alle gemessenen Spektren im ASCII-xy-Format.

4 Auswertung und Diskussion

1. Falls die xy-ASCII-Daten ein Komma als Dezimalseparator verwenden, ersetzen Sie das Komma durch einen Punkt (Texteditor verwenden).

2. Laden Sie alle aufgenommenen Spektren in die Software IGOR PRO ein. Nennen Sie die waves `spec0`, `spec1` u.s.w. `spec0` sollte die Leermessung sein (Ethanol/Ethanol). Sie brauchen *nicht* die x-Werte einzulesen (also die Wellenlänge); statt dessen können Sie die eingelesenen *waves* intern skalieren mit Hilfe des Befehls:

```
setscale x, xStart, xStop, spec0,spec1, spec2, (...), lastSpec .
```

Hierin sind `xStart` und `xStop` durch die jeweiligen Zahlenwerte zu ersetzen.

3. Erzeugen Sie das Extinktionsspektrum der niedrigsten Konzentration wie folgt:

- a) Duplizieren Sie `spec0` (das Ethanol/Ethanol-Spektrum) in eine neue Wave, die das Extinktionsspektrum der niedrigsten Konzentration enthalten soll und lassen Sie IGOR aus der relativen Transmission $%T$ die Absorption berechnen:

```
duplicate spec0 spec1Abs
```

```
spec1Abs /= spec1
```

```
spec1Abs = log(spec1Abs)
```

```
display spec1
```

```
display spec1Abs
```

4. Typische Ergebnisse für die Transmission von Kristallviolett sind in der Abb. 1 gezeigt. Man erkennt, dass bereits eine $3,0 \cdot 10^{-6}$ -M Lösung im Absorptionsmaximum zu einer Schwächung $> 50\%$ führt.

5. Die Abb. 2 zeigt die Extinktion der beiden Lösungen, deren relative Transmission $%T$ in der Abb. 1 dargestellt wurde. Gehen Sie zur Auswertung wie folgt vor:
- Gehen Sie von der Abbildung der Extinktion aus, deren Erstellung weiter oben erklärt wurde.
 - Greifen Sie auf die graphischen Werkzeuge von IGOR zurück. Klicken Sie auf die Graphik, wählen Sie dann im Menü „Graph“ die Option „Show Tools“. Links neben der Abbildung erscheint eine Funktionsleiste. Klicken Sie auf das Liniensymbol und ziehen Sie eine Grundlinie entlang der Absorption (vgl. Abb. 2). Erzeugen Sie durch Klicken auf „Show Info“ im Menü „Graph“ unterhalb der Abbildung eine Cursorleiste. Ziehen Sie einen der beiden Cursor auf die Nähe des Maximums der Absorption und bewegen Sie ihn mit Hilfe der Tastatur-Pfeiltasten auf das genaue Maximum. Deaktivieren Sie den Cursor nun durch Klicken auf das entsprechende Cursor-Symbol in der Cursor-Leiste. Danach machen Sie bitte einen Rechts-Klick auf das andere Cursor-Symbol in der Cursorleiste und wählen Sie im Pop-up-Menu unter „Style“ die Option „Free“ aus. Sie können diesen Cursor nun auf eine beliebige Stelle der Graphik positionieren, nicht nur auf eine Wave. Bewegen Sie den Cursor senkrecht unter den anderen Cursor, so dass er auf der Grundlinie „sitzt“. Achten Sie darauf, dass die x-Positionen beider Cursor möglichst identisch sind. Nun können Sie in der Cursor-Leiste den Wert Δy ablesen. Dieser Zahlenwert ist die effektive Extinktion durch das Farbstoffmolekül im Absorptionsmaximum.
 - Verfahren Sie entsprechend mit allen Absorptionsspektren.
 - Fertigen Sie eine Tabelle an, die die Spalten „Konzentration“ und „Absorption“ enthält und tragen Sie dort alle Ergebnisse ein.
 - Erstellen Sie mit IGOR eine Graphik, die die Extinktion als Funktion der Konzentration zeigt. Wählen Sie als Darstellungsmodus „Marker“.
 - Führen Sie im linearen Bereich der Wertemenge eine lineare Regression

druck (Analysis \rightarrow curve fitting) und ermitteln Sie die Steigung der Geraden. Diese Steigung ist gleich $\frac{dA}{dc}$. Diese Steigung ist nach dem Lambert-Beerschen Gesetz gleich:

$$\frac{dA}{dc} = \varepsilon \cdot L.$$

Ermitteln Sie hieraus den molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten ε_{10} .

- g) Stellen Sie den molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten ε_{10} für den Farbstoff als Funktion der Wellenlänge dar.

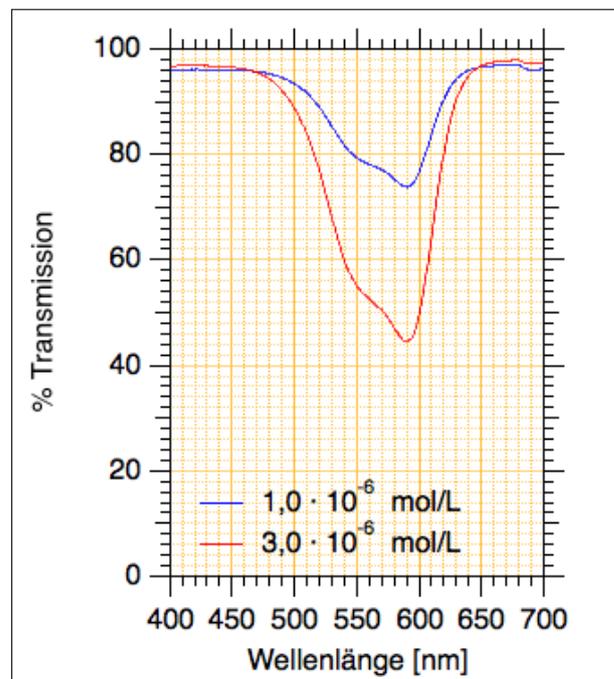


Abbildung 1: Relative Transmission (% T) ethanolischer Lösungen von Kristallviolett im Spektralbereich 400-700 nm.

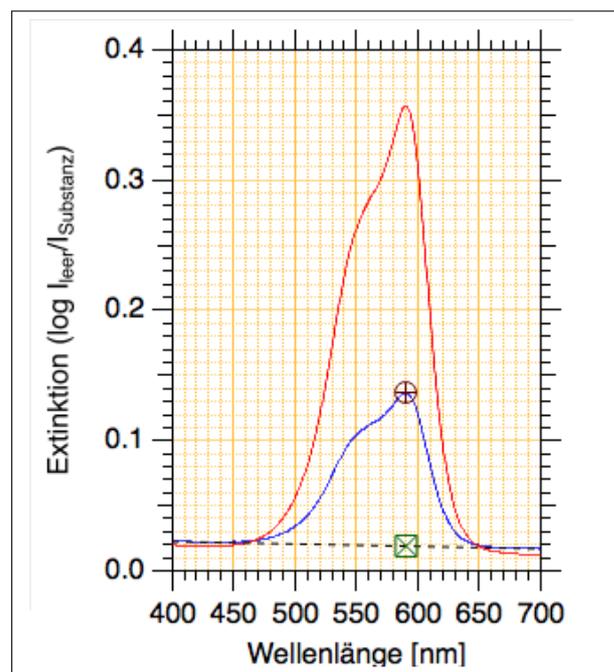


Abbildung 2: Extinktion ethanolischer Lösungen von Kristallviolett. Die Cursor werden zur Bestimmung des molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten genutzt.