

# Versuch UV/Vis-Spektroskopie

## Gesetz von Lambert–Beer

Im Gegensatz zur IR-Spektroskopie wird die UV/Vis-Spektroskopie oft zur Quantifizierung verwendet. Dazu muss die Abhängigkeit der absorbierten Strahlung von der Stoffmenge beschrieben werden können. Bei kleinen Lichtintensitäten (kein Laser) ist die absorbierte Lichtmenge  $dI$  proportional zur Konzentration  $c$  der Substanz, zur Schichtdicke der Probe  $dz$  und zum Absorptionskoeffizienten  $\epsilon$  der Substanz bei der eingestrahlten Wellenlänge  $\lambda$ . Dieser Zusammenhang wird auch Gesetz von Lambert–Beer genannt:

$$dI = -I c \epsilon dz$$

Die integrierte Form ist:

$$I(z) = I_0 \exp(-c \epsilon z)$$

wobei  $I_0$  die Intensität des eingestrahlten Lichtes ist.

Absorptionseinheiten:

$$\text{Transmission} = I / I_0$$

$$\text{Absorbanz } A = \text{Extinktion } E = -\log_{10}(I / I_0)$$

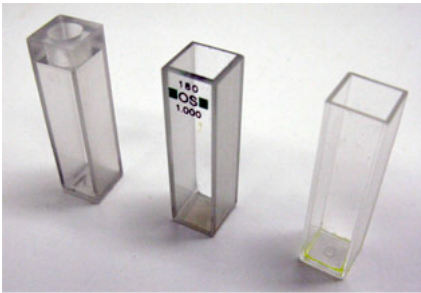
$A = 1$  ist somit das Gleiche wie  $T = 10\%$

Die Absorbanz hat demnach den Vorteil, proportional zur Konzentration zu sein. Der Absorptionskoeffizient  $\epsilon$  wird meist in der Einheit  $\text{l mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$  angegeben, also nicht in einer SI-Einheit. Manchmal wird auch der dekadische Logarithmus des Extinktionskoeffizienten verwendet, wobei die Einheit einfach weggelassen wird. Dabei muss man wissen, dass die Konzentration in  $\text{mol l}^{-1}$  und die Weglänge in  $\text{cm}$  angegeben wird.

# Spektrometer S2000 von OceanOptics

Für die Arbeiten im Praktikum stehen zwei gleiche Spektrometer der Firma OceanOptics zur Verfügung. Sie werden für alle Arbeiten in diesem Versuch verwendet. Für Details zum Aufbau des Spektrometers konsultieren Sie die Website des Herstellers: [http://www.analytik.ethz.ch/praktika/phys\\_anal/UV/SpecAnim/specop.htm](http://www.analytik.ethz.ch/praktika/phys_anal/UV/SpecAnim/specop.htm)

## Küvetten



Küvetten aus Glas oder Quarzglas sind teuer und zerbrechlich. Bitte vorsichtig handhaben. Keine Fingerabdrücke auf den Wänden hinterlassen. Sie ergeben eine zusätzliche unbekannte Absorption und können von UV-Licht kleiner Wellenlänge in das Glas eingätzt werden. Verwenden Sie die zur Verfügung stehenden Spezialtücher zur Reinigung. Diese hinterlassen weder Fusseln noch Kratzer noch Zusatzstoffe aus gewöhnlichen Papiertüchern. Ihre Arbeitshygiene wird beim Handhaben von Farbstoffen sehr schnell sichtbar.

## Lichtquelle



Das Licht für die Messungen stammt aus einer kombinierten Quelle, bestehend aus einer Quecksilberdampfampe für den sichtbaren und nahen IR-Bereich und einer Deuteriumlampe für den UV-Bereich. Fest verbunden mit dem Gehäuse der Quelle ist der Küvettenhalter.

## Lichtleiter



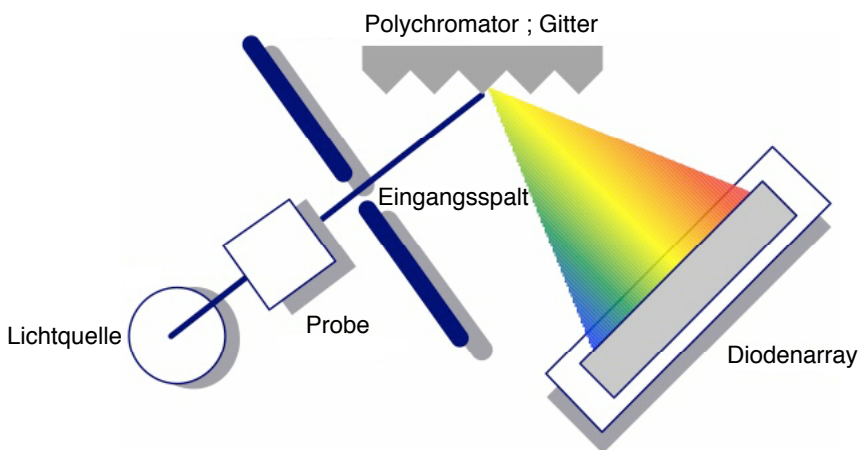
Das Licht, das durch die Küvette tritt, wird von einer Linse gesammelt und auf eine Quarz-Faser fokussiert. Die Faser transportiert das Licht zu einer Steckkarte im Innern eines Computers. Auf der Karte befindet sich ein optisches System und der Detektor.

### Eingangsspalt

Eine Linse sammelt das Licht, das aus der Faser tritt, auf den Eingangsspalt des Spektrometers (siehe Figur unten). Er hat eine fixe Breite von 25  $\mu\text{m}$ .

### Polychromator

Das Licht hinter dem Spalt wird auf ein Beugungsgitter gelenkt, das als Polychromator wirkt. Das Gitter hat 600 Striche pro mm.



Gemäss der Spektrometerequation

$$\lambda/d = \sin \theta \quad (\lambda \text{ Wellenlänge, } d \text{ Anzahl Striche pro mm, } \theta \text{ Beugungswinkel)}$$

wird das Licht abhängig von der Wellenlänge in ein Spektrum aufgespalten.

## **Detektor**

Das Licht fällt auf ein CCD-Array aus Silicium (Charge-Coupled Device) bestehend aus 2048 Elementen. Der Wellenlängenbereich reicht von ca. 200 nm bis ca. 900 nm, individuell für jedes Spektrometer. Die Empfindlichkeit eines Elementes beträgt 86 Photonen pro Intensitätseinheit (Count). Die Detektorelemente sammeln das Licht während einer Integrationszeit von 3 ms bis 60 s und werden dann ausgelesen. Der Hersteller hat den Detektor kalibriert und liefert für jedes Element seine individuelle Empfindlichkeit. Es ist darauf zu achten, dass die Integrationszeit nicht zu lang ist, da dadurch das Element gesättigt werden kann, was zu verfälschten Ergebnissen führt.

## **Detektorrauschen**

Das Rauschen eines Detektorelementes ist einerseits gleich der Anzahl gemessener Photonen während der Integrationszeit (Zählfehler) und zusätzlich vermehrt um einen individuellen Beitrag, der von der Qualität des Elementes abhängt (Dunkellesen).

## Software OOIBase32

Das Spektrometer kann nicht betrieben werden, ohne eine Software auf dem Computer zu haben, die die Signale des Detektors liest und die Ergebnisse darstellt. Das Software-Produkt OOIBase32 wird vom Hersteller mitgeliefert. Dabei müssen gewisse Einstellungen vorgenommen werden, die das Verhalten des Spektrometers beeinflussen:

### – Integrationszeit, "Integration"

Die Integrationszeit wird in ms angegeben. Man wählt eine möglichst grosse Integrationszeit, um den Messfehler zu minimieren. Gemäss Hersteller sollte aber kein Detektorelement ein Signal grösser als 3500 Counts ausgeben, sonst hat eine Sättigung stattgefunden.

### – Zeitliche Mittelung, "Average"

"Average" bezeichnet die Anzahl Spektren, die hintereinander gemessen und deren Mittelwert ausgegeben wird. Dies ist ein rein rechnerisches Verfahren. Durch die Wahl einer grossen Anzahl Spektren kann das Signal/Rauschen-Verhältnis gross gehalten werden. Der Nachteil ist eine lange Wartezeit, bis die Spektren gesammelt sind.

### – Laterale Mittelung, "Boxcar"

Der spektrale Abstand der Detektorelemente beträgt etwa 0.3 nm. Durch Zusammenfassen benachbarter Elemente kann auf Kosten der Auflösung eine Verbesserung des Signal/Rauschen-Verhältnisses bewirkt werden. Dabei wird von einer wählbaren Anzahl benachbarter Elemente der Mittelwert gebildet. Es wird ein gleitender Durchschnitt berechnet, wobei bei jeder Elementposition ein Mittelwert ausgegeben wird. Ein individuelles Element beteiligt sich also an mehreren Mittelwerten. Die Anzahl Elemente kann im Feld "Boxcar" eingegeben werden, wobei der Wert 0 zu keiner Mittelung führt, der Wert 1 zu Zweiergruppen, etc.

### – Dunkelspektrum speichern, "Store Dark", Kontrollfeld mit dunkler Glühbirne

Die Lampe wird ausgeschaltet oder der Lichtstrahl wird im Küvettenhalter vollständig blockiert. Durch Drücken auf das Kontrollfeld wird das Signal der Detektorelemente gemessen und gespeichert, das ohne Licht ausgegeben wird. Dieser Wert kann in der Folge vom ausgegebenen Wert der Detektorelemente subtrahiert werden.

### – Dunkelstrom subtrahieren, "Subtract Dark Spectrum", Kontrollfeld mit Minuszeichen und dunkler Glühbirne

Das Dunkelspektrum, das vorgängig gespeichert wurde, wird nun von allen künftig gemessenen Spektren subtrahiert. Durch erneutes Klicken auf das Kontrollfeld kann die Funktion wieder ausgeschaltet werden.

Das Spektrometer ist ein Einstrahlgerät. Das Spektrum  $I$  der Probe und das Referenzspektrum  $I_0$  müssen zeitlich getrennt voneinander aufgenommen werden. Die Transmission wird in der Folge so berechnet, dass die Grösse  $I$  aus dem Spektrometer ausgelesen und durch die im Memory des Computers gespeicherte Grösse  $I_0$  dividiert wird.

**– Referenzspektrum speichern, "Store Reference", Kontrollfeld mit heller Glühbirne**

Das aktuell gemessene Spektrum wird als Referenzspektrum im Memory des Computers abgelegt.

Das gemessene Spektrum kann auf verschiedene Weise auf dem Bildschirm dargestellt werden.

**– Anzeige im Scope-Modus, "Scope Mode", Kontrollfeld mit Buchstaben S**

Für jede Position eines Detektorelementes wird die aktuell ausgelesene Intensität in Anzahl Counts dargestellt, allenfalls vermindert um das Dunkelspektrum (siehe oben).

**– Anzeige im Absorbance-Modus, "Absorbance Mode", Kontrollfeld mit dem Buchstaben A**

Für jede Position eines Detektorelementes wird die aktuell ausgelesene Intensität (allenfalls vermindert um das Dunkelspektrum, siehe oben) durch das zuletzt gespeicherte Referenzspektrum (allenfalls vermindert um das Dunkelspektrum) dividiert. Der negative Logarithmus des Resultates wird ausgegeben.

**– Anzeige im Transmissions-Modus, "Transmission Mode", Kontrollfeld mit dem Buchstaben T**

Für jede Position eines Detektorelementes wird die aktuell ausgelesene Intensität (allenfalls vermindert um das Dunkelspektrum, siehe oben) durch das zuletzt gespeicherte Referenzspektrum (allenfalls vermindert um das Dunkelspektrum) dividiert. Der Wert wird mit 100 multipliziert ausgegeben.

## **Durchzuführende Versuche**

Die einzelnen Versuche können aufgrund des Vorwissens angepasst oder allenfalls auch weggelassen werden.

### **Erster Nachmittag:**

#### **Betrachtung von mehreren IR- und UV/Vis-Spektrometern.**

- Klassisches UV/Vis-Spektrometer. Baujahr vor 1990, Zweistrahlgerät, Monochromator (Gitter)
- Modernes UV/Vis-Gerät der Firma OceanOptics, Einstrahlgerät, Gitter, Dioden-Array-Detektor
- klassisches IR-Spektrometer der Firma PerkinElmer, Einstrahlgerät, Michelson-Interferometer, ATR-Einheit
- Modernes IR-Spektrometer der Firma PerkinElmer, Einstrahlgerät, Michelson-Interferometer

Welches sind die Vor- und Nachteile der verschiedenen Geräte? Warum baut man keine Interferometer im UV/Vis-Bereich als Routinegeräte?

#### **Betrachtung der Spektren verschiedener Lichtquellen.**

- Sonne
- Sonne durch Fensterglas
- Sonne durch Schutzbrille
- Glühbirne
- Leuchtstoffröhre
- Feuerzeug
- Laserpointer
- diverse LEDs
- Bildschirm
- bringen Sie selbst etwas mit?

#### **Charakterisierung von Küvetten**

in welchem Wellenlängenbereich sind Küvetten einsetzbar?

- aus Kunststoff
- aus Glas
- aus Quarz

Messen Sie.

#### **Lösungsmittel**

Gute Lösungsmittel für die UV-Spektroskopie vereinen die Eigenschaften

- Durchsichtigkeit im gewünschten Wellenlängenbereich
- gutes Lösungsvermögen

Welches sind die üblichen Lösungsmittel für welche Stoffklassen? Messen Sie.

## **Solvatochromer Effekt**

Lösen Sie je ca. 1 mg "Reichardt's Dye" in verschiedenen Lösungsmitteln. Nehmen Sie die Spektren auf. Interpretation?

## **Farbstoffe**

Kurze Repetition (hoffentlich) der Farblehre aus dem Mittelschulstoff. Wie erzeugt der Fernseher seine Farben, wie der Farbdrucker?

Unser Gehirn ist imstande, mit der Information von unserem Gehörsinn eine umfassende Frequenzanalyse durchzuführen. Um einen bestimmten Höreindruck zu erreichen, bedarf es eines ganz bestimmten Tonspektrums. Der gleiche Eindruck kann nicht auf andere Art erhalten werden. Inwiefern gilt das auch für den Gesichtssinn? Kann ein bestimmter Farbeindruck auf mehrere Arten hervorgerufen werden? Aus dem Spektrum eines Farbstoffs kann der Farbeindruck berechnet werden (sonst könnte man keine Fernsehkamera bauen). Geht das auch umgekehrt? Sie sollen aus dem Farbeindruck das Spektrum abschätzen. Dazu nehmen Sie qualitativ die Spektren einiger ausgewählter Lebensmittelfarbstoffe auf.

## **Zweiter Nachmittag:**

### **Konzentrationsbestimmung**

Das UV/Vis-Spektrometer eignet sich zur quantitativen Bestimmung von absorbierenden Substanzen. Sie haben die Aufgabe, in einer Sonnenmilch die Konzentration zweier Substanzen zu bestimmen, die die gefährlichen UVB-Strahlen absorbieren. Die Reinstoffen stehen zur Verfügung.

- Welche analytische Methode, unabhängig von der UV-Spektroskopie, würden Sie zur Lösung des Problems einsetzen?
- Nun steht Ihnen aber ausschliesslich ein UV-Spektrometer zur Verfügung. Nehmen Sie an, das Gesetz von Lambert und Beer sei gültig. Die Absorbanzen der beiden Stoffe seien additiv. Wie gehen Sie vor?

### **Fehlerrechnung und Entscheidungsfindung**

Nur in der Ausbildung werden Messungen durchgeführt, die nach der Dokumentation nicht weiter verwendet werden. Analytische Chemie ist kostspielig. Gemessen wird, um eine Entscheidung zu fällen. Typische Frage: ist ein Grenzwert überschritten? Ihre Messwerte sind fehlerbehaftet. Sind sie deshalb falsch? Gibt es exakte Messwerte? Wo sind die Fehlerquellen? Wie wichtig sind sie? Wie berechnen Sie Fehlerschranken? Hält die Methode einer näheren Betrachtung stand? Wie fällen Sie Entscheidungen aufgrund unscharfer Messwerte? In welchen beruflichen Positionen könnten Sie in die Situation gelangen, mithilfe von Messwerten Entscheidungen zu fällen? Können Sie sich vorstellen, dass zwei Leute, denen das gleiche experimentelle Material zur Verfügung steht, zu gegensätzlichem Entscheidungsverhalten gelangen, weil sie unterschiedliche Standpunkte vertreten?



## **Hinweise zum Bericht**

Der Versuch IR und UV/Vis besteht aus zwei recht eigenständigen Teilen. Daher sind auch zwei Berichte zu verfassen. Um Ihren Aufwand in Grenzen zu halten, kann der Bericht über UV/Vis knapp gehalten werden.

- keine Theorie
- Darstellung der qualitativen Ergebnisse in Tabellenform
- gemessene Spektren als Ausdruck im Anhang
- Aufstellen der Gleichungen für den quantitativen Teil
- vorbereitetes Mathematica-Worksheet mit Berechnung und Fehlerrechnung als Ausdruck im Anhang