

Hochschule Emden / Leer	Physikalische Chemie Praktikum	Vers. Nr. 22 Febr. 2022
Aufbau der Materie: Absorptionsspektrum eines Farbstoffes / Photometrie		

Nähere Informationen finden Sie im versuchsbegleitenden Moodlekurs.

### Allgemeine Grundlagen

Spektroskopie und prinzipieller Aufbau von Absorptions-Spektrometern, Photometrie

### Grundlagen zum Versuch

Bei Lichteinstrahlung mit einer passenden Wellenlänge kann ein Elektron aus dem höchsten besetzten Energiezustand ( $n' = N/2$ ) auf das nächst höhere unbesetzte Energieniveau ( $\{n'' = (N/2) + 1\}$ ) gebracht werden. Dabei wird Energie aus der Lichtstrahlung vom System aufgenommen. Die absorbierte Wellenlänge ist

$$\lambda = \frac{h \cdot c}{\Delta E} \quad \text{und} \quad (1)$$

$$\Delta E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} = h \cdot c \cdot \tilde{\nu} \quad (2)$$

( $c$  = Vakuumlichtgeschwindigkeit,  $\nu$  = Frequenz,  $h$  = Plancksche Konstante und  $\tilde{\nu}$  = Wellenzahl in  $\text{cm}^{-1}$ ).

Die Wellenlänge der Absorption wird mit einem Absorptionsspektrometer gemessen.

Eine Anordnung zur Aufnahme eines Absorptionsspektrums ist in Abb. 1 dargestellt. Das Licht einer Lichtquelle wird durch ein Prisma geschickt und dort spektral zerlegt. Das nahezu monochromatische Licht wird durch die Probe auf einem Strahlungsempfänger geleitet. Der Strahlungsempfänger ist mit einem Anzeigeinstrument verbunden, dessen Anzeige der auffallenden Lichtintensität proportional ist. Die Spaltbreite der Blende sollte möglichst klein sein, damit man dem Fall monochromatischer Einstrahlung nahe kommt. Anstelle des Prismas kann auch ein Beugungsgitter verwendet werden (Gittermonochromator)

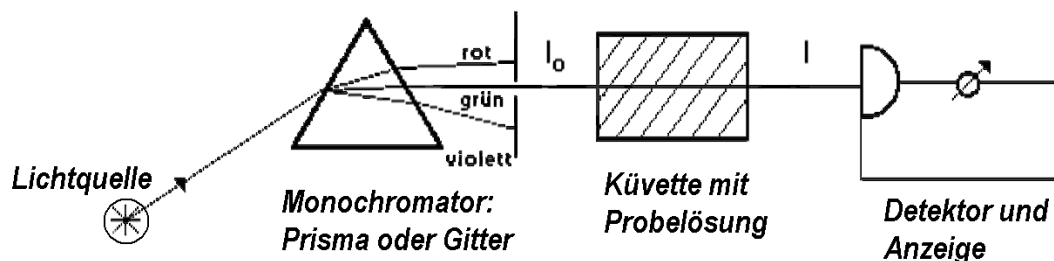
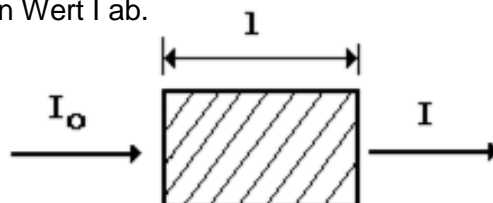


Abb. 1

Schickt man monochromatisches Licht der Intensität  $I_0$  durch eine absorbierende Lösung, dann sinkt die Intensität auf den Wert  $I$  ab.



Intensitätsschwächung eines Lichtstrahls beim Durchgang durch eine absorbierende Lösung

Je nach dem Spektralbereich, in dem das Absorptionsspektrum aufgenommen werden soll, sind die Bauelemente eines Spektralapparates verschieden. Als Lichtquelle benutzt man im Sichtbaren Wolframlampen, im Ultravioletten Quecksilberdampf- oder Wasserstofflampen. Als Strahlungsempfänger werden im Sichtbaren und im Ultravioletten Photozellen oder Photomultiplier eingesetzt. Alle Bauteile, durch die die Strahlung durchgehen soll, dürfen in dem betrachteten Spektralbereich nicht selbst Licht absorbieren. Für Linsen, Prismen, Küvetten usw. wählt man deshalb im Ultravioletten als Material Quarz und im Sichtbaren Glas.

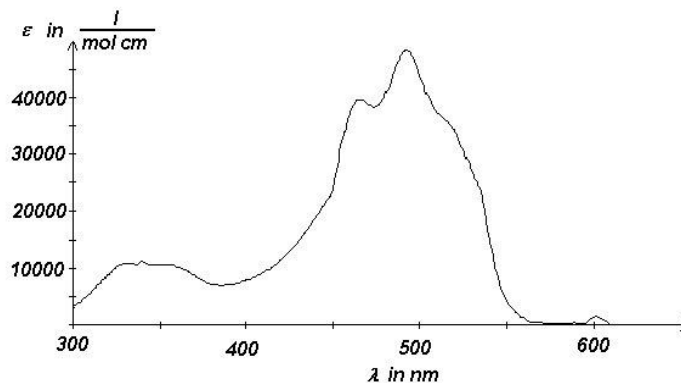
Die Größe

$$E = \lg \frac{I_0}{I} = \lg \frac{100\%}{T \text{ in \%}} \quad (3)$$

bezeichnet man als Extinktion der Lösung. Bei Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes ist E proportional zur Konzentration c des absorbierenden Stoffes. Das ist i.d.R. für kleine Konzentrationen meist kleiner als 0,01 mol/L gegeben. (in der Praxis: für  $E \leq 1$  bei optimaler Wellenlänge). Sie hängt außerdem von der Länge d des Lichtweges in der Lösung und von der Wellenlänge des einstrahlenden Lichtes ab, ist jedoch unabhängig von der Dauer der Lichteinwirkung und der Intensität des eingestrahlenen Lichtes. Für eine bestimmte Wellenlänge gilt

$$E = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (4)$$

Die Konstante  $\varepsilon$  bezeichnet man als molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten. Eine Darstellung, in der  $\varepsilon$  einer Lösung in Abhängigkeit von der Wellenlänge  $\lambda$  oder der Wellenzahl  $\tilde{\nu} = 1/\lambda$  aufgetragen ist, wird als Absorptionsspektrum bezeichnet.



Bei der Absorptionsmessung an Stoffen, die in einem Lösungsmittel gelöst sind, ist zu berücksichtigen, dass auch das Lösungsmittel selbst bei der betrachteten Wellenlänge absorbieren kann. Nach (4) ist dann, falls Lösungsmittel LM und Gelöstes G nicht miteinander reagieren, die Extinktion  $E_L$  der Lösung

$$E_L = (\varepsilon_{LM} \cdot c_{LM} + \varepsilon_G \cdot c_G) \cdot d \quad (5)$$

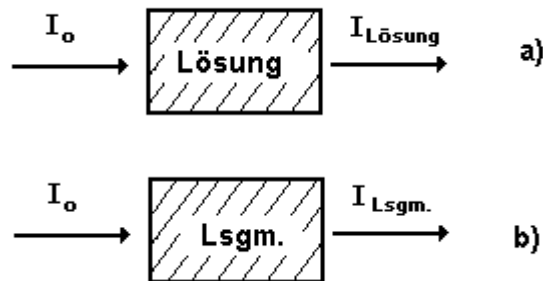
Falls die Konzentration des Gelösten genügend klein ist, ist  $c_{LM}$  in der Lösung praktisch genau so groß wie in reinem Lösungsmittel, und es gilt ( $E_{LM}$  = Extinktion des reinen Lösungsmittels bei der Schichtlänge l)

$$E_L = E_{LM} + E_G \quad (6)$$

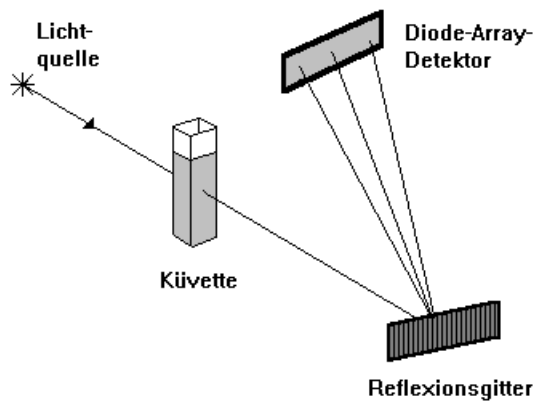
Mit Gleichung (3) ergibt sich daraus

$$E_G = \lg \frac{I_0}{I_L} - \lg \frac{I_0}{I_{LM}} = \lg \frac{I_{LM}}{I_L} \quad (7)$$

Im Einzelnen geht man so vor, dass man durch Drehen des Prismas Licht der interessierenden Wellenlänge durch die Mitte des Blendenspaltes schickt (Intensität  $I_0$ ). Eine Küvette mit dem reinen Lösungsmittel wird in den Strahlengang gestellt und die Anzeige des Strahlungsempfängers abgelesen (Intensität  $I_{LM}$ ). Sodann wird die Küvette mit Lösung gefüllt und die Messung der Lichtintensität wiederholt (Intensität  $I_L$ ). In praktischen Ausführungen von Spektralphotometern wird das Umfüllen der Küvetten dadurch vermieden, dass man zwei gleiche Küvetten benützt, in die eine das Lösungsmittel, in die andere die Lösung einfüllt und entweder die eine oder die andere Küvette in den Strahlungsgang schiebt.



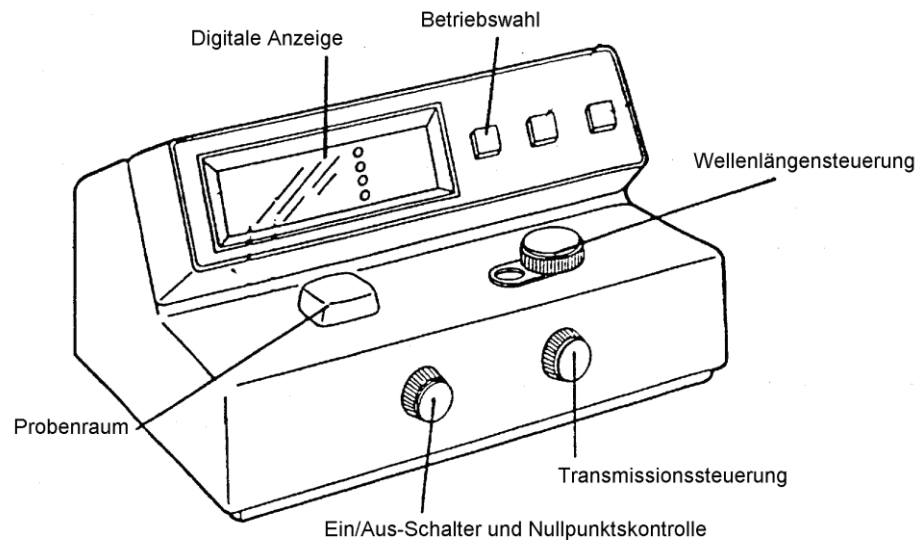
Bei einem neueren Typen von Spektralphotometer wird das gesamte polychromatische Licht der Strahlungsquelle durch die Küvette geschickt und alle Wellenlängen können gleichzeitig von der Probe absorbiert werden. Man erhält sofort für alle Wellenlängen  $E_L$ . Die Auftrennung in ein Spektrum erfolgt anschließend durch ein abbildendes Gitter. Für jede einzelne Wellenlänge wird die Intensität  $I_L$  mit einer lichtempfindlichen Diode gemessen. Man muss deshalb sehr viele Dioden einsetzen und man spricht von einem Dioden-Array-Detektor.



### Aufgabenstellung

Bestimmen Sie das Absorptionsspektrum eines Farbstoffs, die Wellenlänge mit maximaler Absorption ( $\lambda_{max}$ ) des Farbstoffs und die unbekannte Konzentration dieses Farbstoffes in einer Probelösung durch Photometrie.

## Versuchsausführung



Beide verwendete Photometer sind mindestens 15 bis 20 min vor den Messungen einzuschalten.

1.1 Messung der Originallösung (alle 20 nm) am "alten" Photometer

1.2 Finden einer geeigneten Verdünnung bei 2-3 Wellenlängen, die die maximale Absorption aufweisen (siehe 1.1), so dass die Transmission ca.  $10\% < T\% < 20\%$  entspricht

1.3 Spektrum (Messreihe in 5 nm Schritten) am "neuen" Photometer – max. Absorption bei  $\lambda = ?$

2. Photometrie (bei  $I_{\max}$ ) – quantitative Bestimmung (Aufgabe 2.)

### Aufgabe 1: Bei welcher $\lambda$ ist die Absorption des Farbstoffs am größten? + Übersichtsspektrum

1.1 Um einen Überblick über das Spektrum zu erhalten wird die Transmission einer Referenz-/Stammlösung (genaue Konzentration auf der Flasche) des Farbstoffs in Wasser, im Bereich von 340-620 nm in 20 nm Schritten gemessen.

Vorgehensweise (Angaben siehe Abbildung):

a) Stellen Sie den Betriebsmodus auf TRANSMITTANCE indem Sie die Betriebswahl drücken, bis das entsprechende TRANSMITTANCE LED im rechten Teil der Anzeige erscheint.

b) Stellen Sie die Wellenlänge mit der *Wellenlängensteuerung* ein.

c) Mit leerem und geschlossenem Probenraum regeln Sie mit der *Nullpunktskontrolle* die Anzeige auf 0 ein.

d) Stecken Sie die Küvette (runde Küvette - Füllhöhe größer ca. 2/3) mit dest. Wasser in den Probenraum und stellen Sie mit der *Transmissionssteuerung* 100.0 % T ein.

e) Stecken Sie eine zweite, runde Küvette mit der Farbstofflösung (Füllhöhe größer ca. 2/3) in den Probenraum und lesen den Transmissionswert von der Anzeige ab.

f) Ändern Sie die Wellenlänge erneut, überprüfen den Nullpunkt (keine Küvette), regeln wieder neu 100% T ein (Küvette mit Wasser) und messen die Farbstofflösung wieder (Küvette mit Farbstofflösung)

*Punkte b bis e für jede Wellenlänge erneut durchführen.*

1.2 Aus den Daten Ihres Übersichtsspektrums wählen Sie nun einen Wellenlängenbereich in dem die Absorption des Farbstoffes möglichst groß ist und verdünnen die Lösung mit dest. Wasser solange, bis ein möglichst scharfer Absorptionspeak gemessen werden kann (die kleinste Transmission soll größer als 10 % und kleiner als ca. 20 % sein). Verwenden sie dazu

zunächst die Wellenlänge, die in der obigen Messreihe die geringste Transmission hatte. Wenn sie diesen Wert durch Verdünnen der Lösung auf ca. 10-20%, schauen Sie aber nochmal bei benachbarten Wellenlängen. Es darf kein Wert kleiner als 10 % sein. Das Maximum (bei einer Wellenlänge) sollte zwischen 10% und 20% liegen. Bei weiteren Wellenlängen dürfen die Werte größer 20% sein oder noch weiter zwischen 10% und 20% liegen. Die so gefundene verdünnte Farbstofflösung wird für den nächsten Teil benötigt.

- 1.3 Bei dieser Verdünnung wird nun das endgültige Spektrum ermittelt, indem man im Bereich von 250-800 nm alle 5 nm die Transmission misst (Nutzen sie dazu das neue Photometer – Bedienung des Geräts siehe nächste Seite). Ermitteln sie die Wellenlänge mit der maximalen Absorption / minimalen Transmission. Diese wird für den Teil 2. benötigt.

### Bedienung des neuen Photometers inkl. Software:

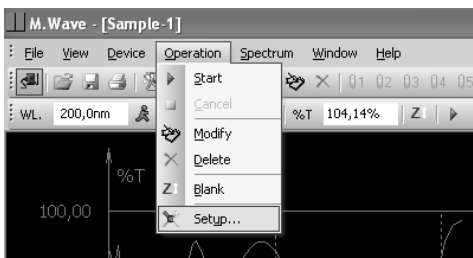
Starten Sie

- das Spectrophotometer UV-1600 PC (Knopf auf der Rückseite)
- den Computer/Rechner (Benutzer: [Labor](#) / Passwort: [Labor12345](#))
- das Programm „M.Wave Professional 1.0“ nachdem der Rechner hochgefahren ist

Verwenden Sie für diesen Versuch die quaderförmigen 1 cm Küvetten (Kunststoff oder Glas - kein Quarz!). Die Küvetten dürfen nur an den beiden geschliffenen Seiten (milchige Seite) angefasst werden. Eine Küvette wird mit Wasser die zweite mit der zu messenden Farbstofflösung gefüllt. Die Küvetten sind mind. 60% bis max. 85% der Höhe zu füllen. Vor dem eigentlichen Füllen werden sie mind. 2 mal mit der neu einzufüllenden Lösung ausgespült.

Öffnen Sie den Probenraum (blauer Deckel: Oberseite links vorn am Gerät) und setzen je eine Küvette mit den ungeschliffenen (klaren) Seiten in Richtung des Strahlenganges in einen der 4 freien Küvetten-Plätze.

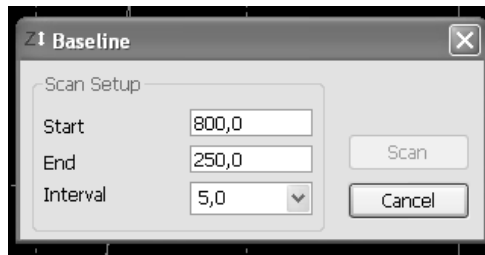
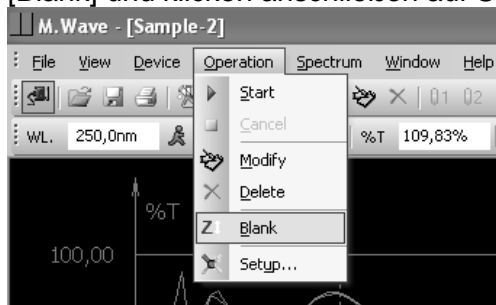
Ziehen oder Schieben Sie den schwarzen Hebel vorn links am Gerät so, dass sich zunächst keine der beiden Küvetten im Strahlengang befindet. (Er hat 4 Positionen. Nur 2 davon sind mit Küvetten belegt s.o.). Merken Sie sich bei welcher Hebelstellung welche Küvette sich im Strahlengang befindet solange die Abdeckung des Probenraums noch geöffnet ist. Bei allen folgenden Messungen sollte der Deckel geschlossen sein.



Gehen Sie im Menü [Operation] auf [Setup] und nehmen die folgenden Einstellungen vor.

(%T / Start 800 / End 250 / Interval 5 / Repeat 1 / Slow / Max. 100 / Min 0)

Bringen Sie anschließend die Küvette mit dem Wasser (Referenzlösung) in den Strahlengang. (Ziehen oder Schieben am schwarzen Hebel vorn links am Gerät ) Dann gehen Sie auf [Operation] / [Blank] und klicken anschließend auf Scan.



Das Photometer beginnt zu arbeiten (Geräusch). Dieser Vorgang dauert ca. 1.5 Minuten. Danach bringen Sie die Küvette mit der Farbstofflösung in den Strahlengang. (Ziehen oder Schieben am schwarzen Hebel vorn links am Gerät ) Anschließend gehen Sie auf [Operation] / [Start] – das Spektrometer arbeitet wieder ca. 1.5 min und es wird parallel am Bildschirm das Spektrum des Farbstoffs angezeigt.

Zum Speichern der Daten des Spektrums gehen Sie auf „Save“ und speichern Sie die Daten als \*.wls Datei ab. Die programminterne Funktion [Export to Excel] benutzen Sie bitte nicht, da sie keine befriedigenden Ergebnisse liefert. Um diese Daten dann in Excel zu verwenden Starten Sie Excel und öffnen die zuvor abgespeicherte Datei in Excel („alle Dateien anzeigen“). Bitte verwenden Sie nicht die Windows Funktion „Öffnen mit“. Es startet der Konvertierungs-Assistent von Excel. Markieren Sie [Getrennt], klicken [weiter], markieren [Komma] und klicken auf [Fertig stellen]. Die Daten werden importiert. In Spalte B sind die Wellenlängen in nm, in Spalte C die Extinktion und in Spalte D die Transmission in %.

## Aufgabe 2 : Bestimmen Sie die Konzentration einer unbekanntem Probelösung

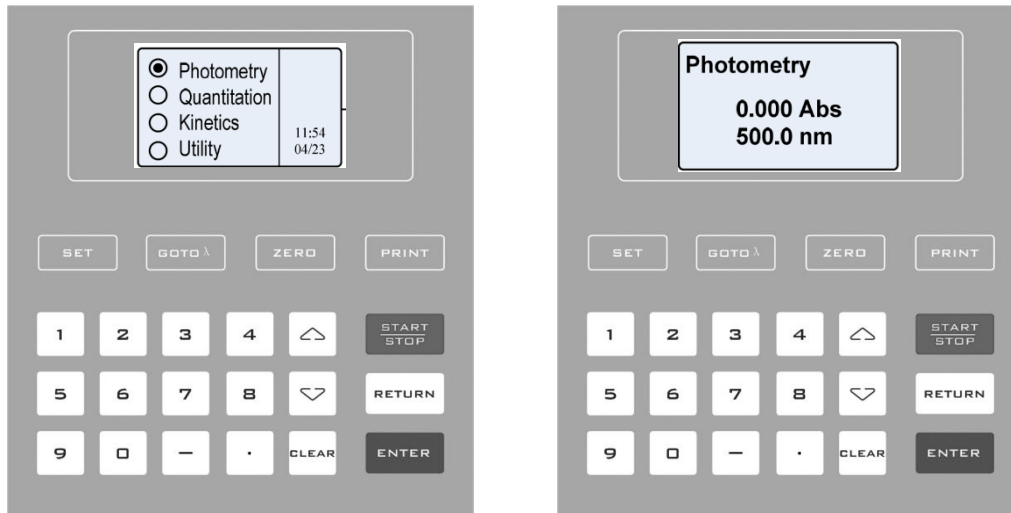
Stellen Sie aus der Referenz-/Stammlösung (brauner 1L Messkolben) mit bekannter Konzentration (Angabe auf der Flasche) mindestens 6 Lösungen mit verschiedenen Konzentrationen durch verdünnen mit Wasser her. Die Verdünnungen sollten so gewählt werden, dass die Extinktionen der Lösungen gleichmäßig zwischen  $E = 0$  bis max.  $E = 1.000$  verteilt sind. (Bei  $E \geq 1$  ist davon auszugehen, dass das Lambert-Beersche Gesetz nicht mehr gültig und somit keine lineare Abhängigkeit von  $c$  mehr gegeben ist.)

$$E = \log_{10} \frac{I_0}{I} = \log_{10} \frac{100\%}{T \text{ in } \%}$$

Für die Herstellung werden mittels Bürette (oder Vollpipette) entsprechende Mengen in Messkolben gegeben und mit Wasser bis zur Eichmarke aufgefüllt. Die Kolben sind gründlich zu schütteln. Messen Sie die Transmissionen der hergestellten Lösungen, der unbekanntem Probe (250 ml Messkolben) und der Referenzlösung/Stammlösung nur bei der Wellenlänge bei der Sie in 1.3. die stärkste Absorption festgestellt haben. Notieren sie im Messprotokoll das zur Herstellung verwendete Volumen Stammlösung und die daraus berechnete Konzentration sowie die Transmission und die daraus berechnete Extinktion oder messen Sie die Extinktion direkt.

### Bedienung des neuen Photometers direkt am Gerät:

Beenden Sie ggf. das Programm M.Wave am PC, da dieses die manuelle Bedienung des Photometers blockiert. Wählen Sie am Display des Photometers „Photometry“ aus und drücken Enter. Die Wellenlänge für die Messung (siehe 1.3. stärkste Absorption) können Sie mit **GOTO λ** und der anschließenden Eingabe in nm z.B. „400“ einstellen. Der Nullpunkt wird Sie anschließend über **ZERO** gesetzt, dazu muss sich eine Küvette mit Wasser im Strahlengang befinden. Nach Einbringen einer Küvette mit der Farbstofflösung kann die Extinktion (Abs = engl. Absorbance) im Display direkt abgelesen werden.



Die Konzentration einer unbekanntenen Probe-Lösung wird dann im Protokoll "graphisch" ( $y = ax + b$ ) aus der Funktion  $E = f(c)$  der Extinktionen der Verdünnungen mit bekannter Konzentration ermittelt.

Um die aufgezeichneten Daten zur weiteren Auswertung mitnehmen zu können, **bringen Sie bitte einen USB-Stick mit zum Praktikum.**

### Zubehör

2 Photometer (Spectronic 20 D und UV-1600PC)  
PC mit Programm MWave  
2 Küvetten rund (Glas)  
2 Küvetten rechteckig (PMMA oder PS)

8 Messkolben 100 ml  
1 Bürette 50 ml  
Pipetten  
1 Reagenzglasgestell  
Stopfen

Farbstofflösung: 1,1'-Diethyl-2,2'-cyanin-jodid  
oder  
4'-Dimethylamino-azobenzol-2-carbonsäure (Methylrot) (pH<4)