

Biophysik für Pharmazeuten I.

2023/24 I.

Vorlesung 9

Absorption und Streuung des Lichtes

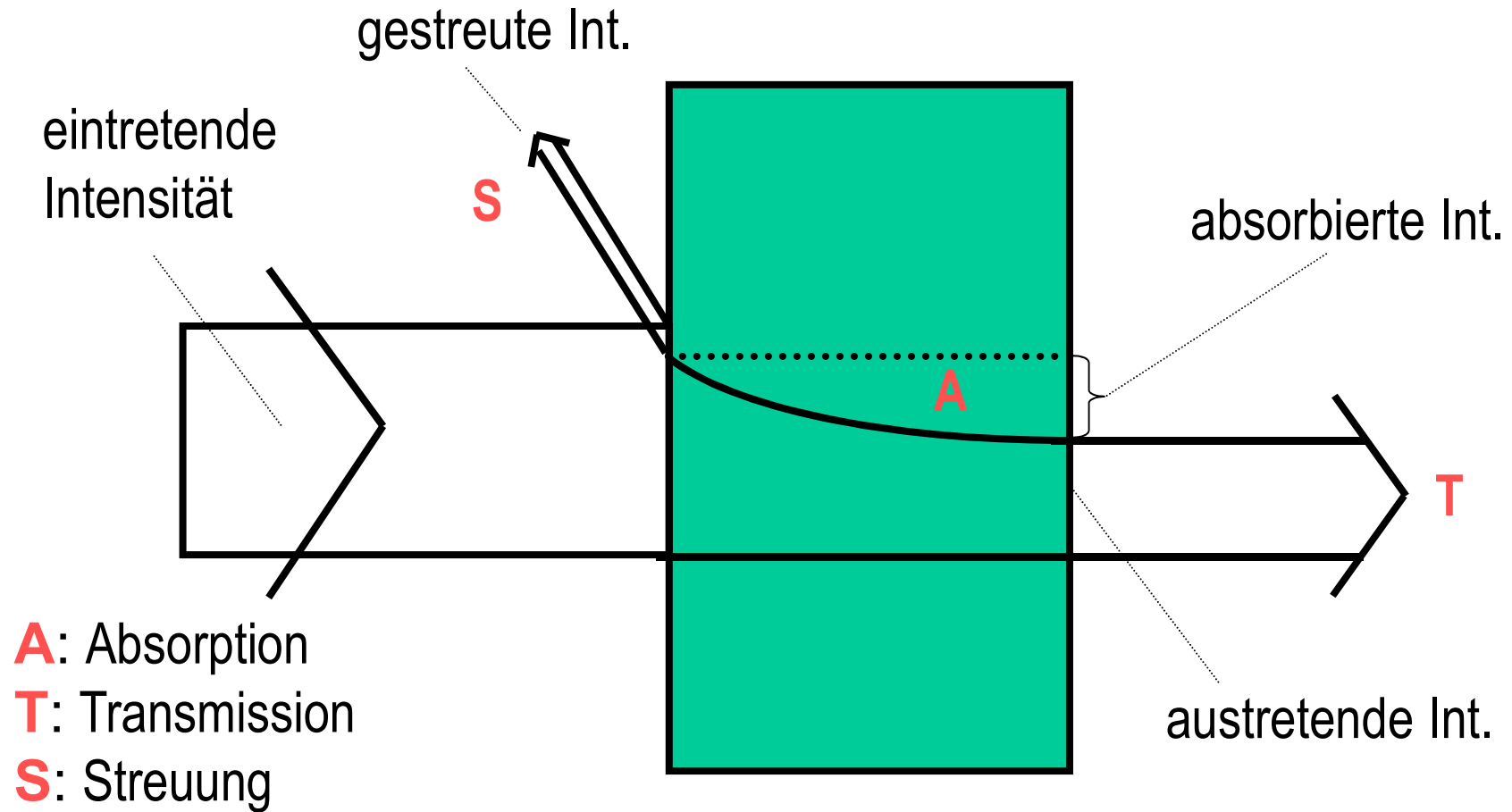


06.11.2023

Absorption des Lichtes

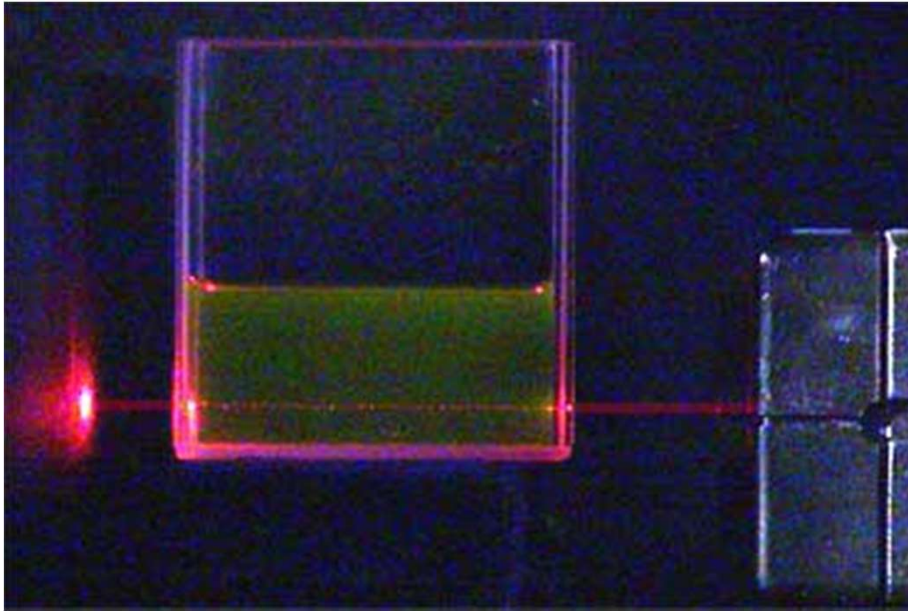


Grunderscheinungen

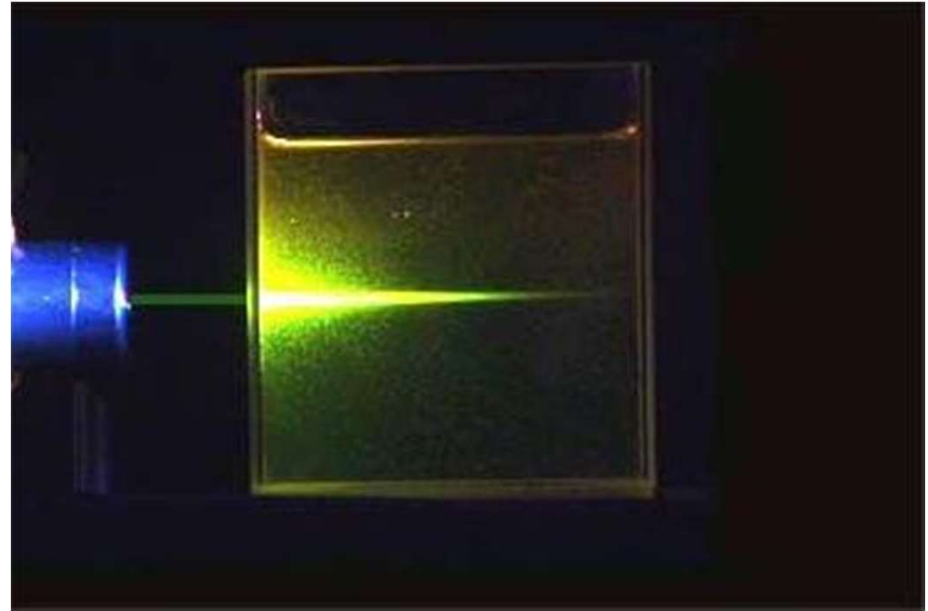


Annahme: Der größte Teil des Lichtes wird absorbiert oder durchquert.
Die Streuung ist jetzt vernachlässigbar.

Absorption von Licht in einer Lösung



rote monokromatische Lichtquelle
(laser, $\lambda = 633 \text{ nm}$)
keine Absorption



grüne monokromatische
Lichtquelle (laser, $\lambda = 532 \text{ nm}$)
starke Absorption

es gibt eine Absorptionsfähigkeit
die Absorptionsfähigkeit hängt von der Wellenlänge ab

Quantitative Charakterisierung der Absorption

einfachste Situation: sehr kleine (infinitesimal kleine) Schichtdicke

(Parallelstrahl, senkrecht fällt auf ein Medium)

J : die eintretende Intensität

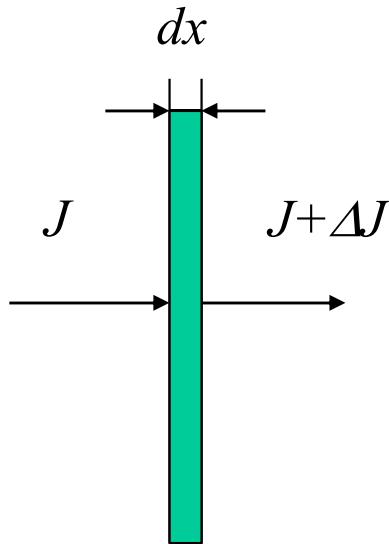
dJ : Veränderung der Intensität (<0)

$J + dJ$: die austretende Intensität

$$dJ = -\mu J dx$$

differenzierte Form des
Schwächungsgesetzes

μ : charakterisiert das Medium (Schwächungsfaktor)



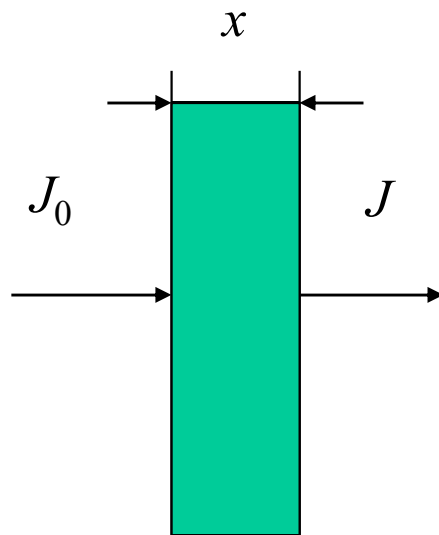
$$\frac{dJ}{dx} = -\mu J$$

die Ableitung einer Funktion
(*hier*: Intensität) ist proportional
zur Funktion selbst.

$$\frac{dJ}{dx} = -\mu J$$

Lösung dieser Differentialgleichung:

$$J = J(x) = J_0 e^{-\mu x}$$



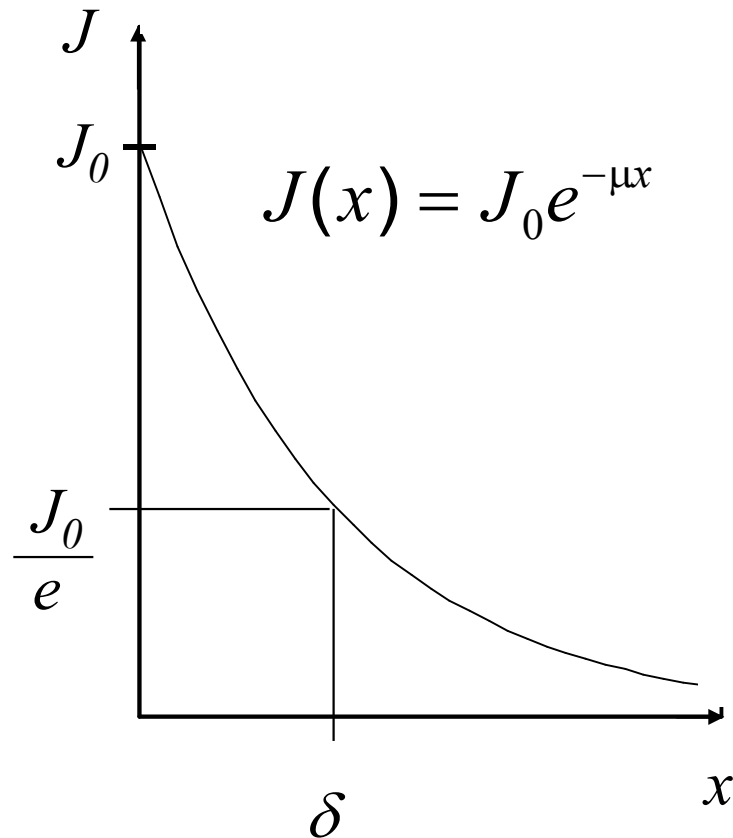
das Schwächungsgesetz

J_0 : die eintretende Intensität

J : die austretende Intensität

μ : der (lineare) Schwächungskoeffizient
(Schwächungsfaktor, Absorptionskoeffizient),
Einheit: 1/m, 1/cm

Graphische Darstellung des Schwächungsgesetzes



Einheit von μ : 1/m, 1/cm

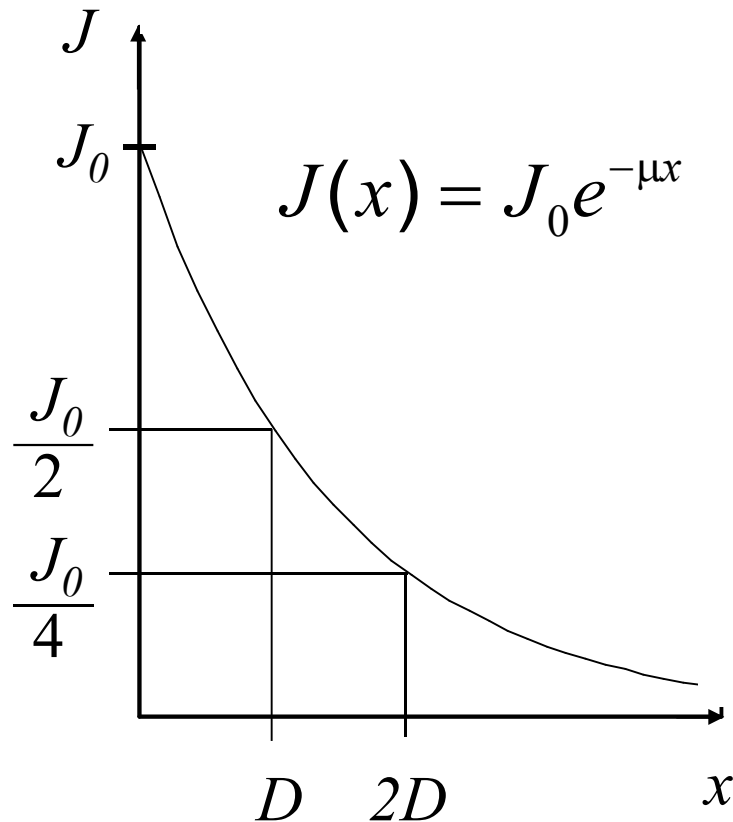
$\delta = 1/\mu$, δ : eine spezielle Schichtdicke

$$J(x) = J_0 e^{-\frac{x}{\delta}}$$

$$J(\delta) = J_0 e^{-\frac{\delta}{\delta}} = J_0 e^{-1} = \frac{J_0}{e}$$

δ : die Schichtdicke nach welcher sich die Intensität der Strahlung auf den e -ten Teil vermindert: Eindringtiefe

Die Halbwertsdicke



D : die Schichtdicke nach welcher sich die Intensität der Strahlung halbiert

$$J(D) = J_0 e^{-\mu D} = \frac{J_0}{2}$$

$$e^{-\mu D} = \frac{1}{2} = 2^{-1} \quad e^{+\mu D} = 2$$

$$\mu D = \ln 2,$$

$$\mu = \frac{\ln 2}{D} = \frac{0.693}{D}$$

$$J(x) = J_0 e^{-\frac{0.693}{D} x}$$

Schwächungskoeffizient

$$\Delta J = -\mu J \Delta x,$$

$$\mu = \mu(\text{Medium; Strahlung}) = \mu\left(\text{Stoffart}, \frac{N}{V}; \lambda\right),$$

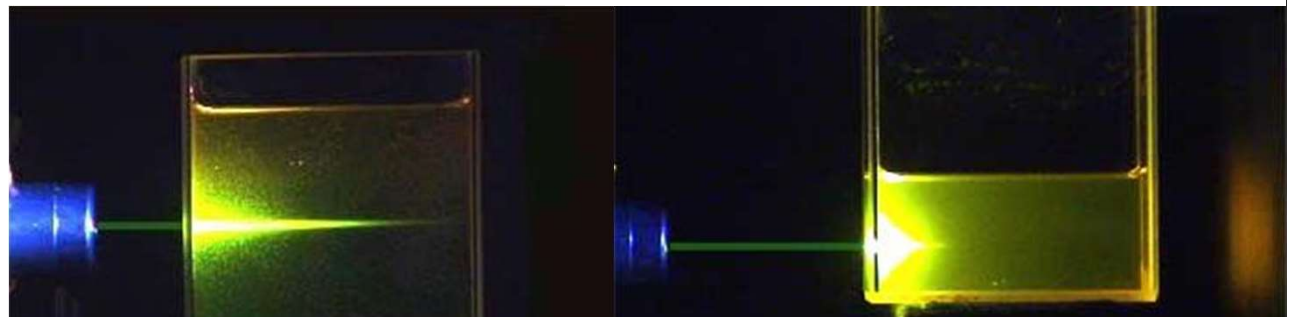
$$\mu\left(\text{Stoffart}, \frac{N}{V}; \lambda\right) = \begin{cases} \mu(\text{Stoffart}, c; \lambda) & \text{bei Lösungen} \\ \mu(\text{Stoffart}, \rho; \lambda) & \text{sonst} \end{cases}$$

wo N: Anzahl der Teilchen die absorbieren können (in Volumen V)

c: Konzentration der Lösung

λ : Wellenlänge

ρ : Dichte



Lambert-Beersches Gesetz

➡ für dünne Lösungen: $\mu \sim c$

$$J = J_0 e^{-\mu x} \quad J_0 = J e^{+\mu x} \quad \frac{J_0}{J} = e^{\mu x}$$

$$\lg \frac{J_0}{J} = \mu x \lg e = \left(\frac{\mu}{c} \lg e \right) c x = \varepsilon c x$$

Gültigkeit: **für dünne Lösungen**

der (dekadische molare) Extinktionskoeffizient: $\varepsilon = \varepsilon(\text{Stoff}; \lambda)$
(spektraler Absorptionskoeffizient)

wichtig: ε hängt von der Konzentration **nicht** ab

Optische Dichte = Extinktion = Absorbanz

OD

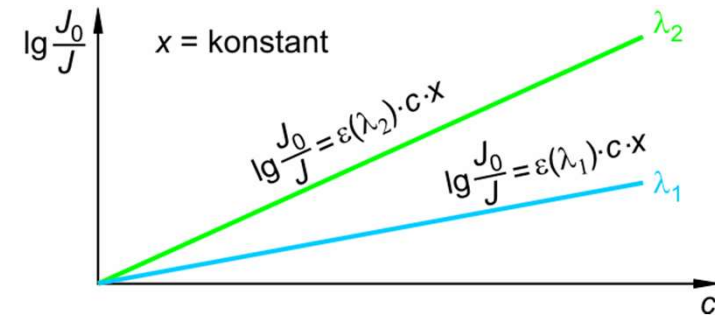
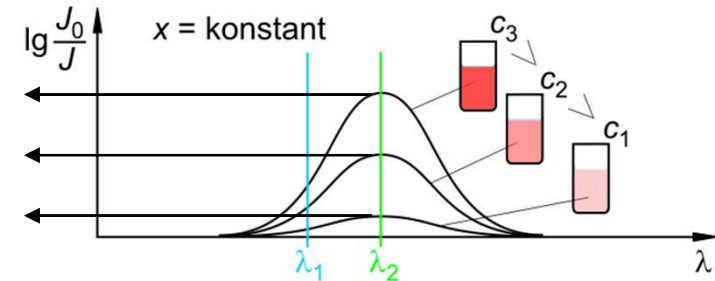
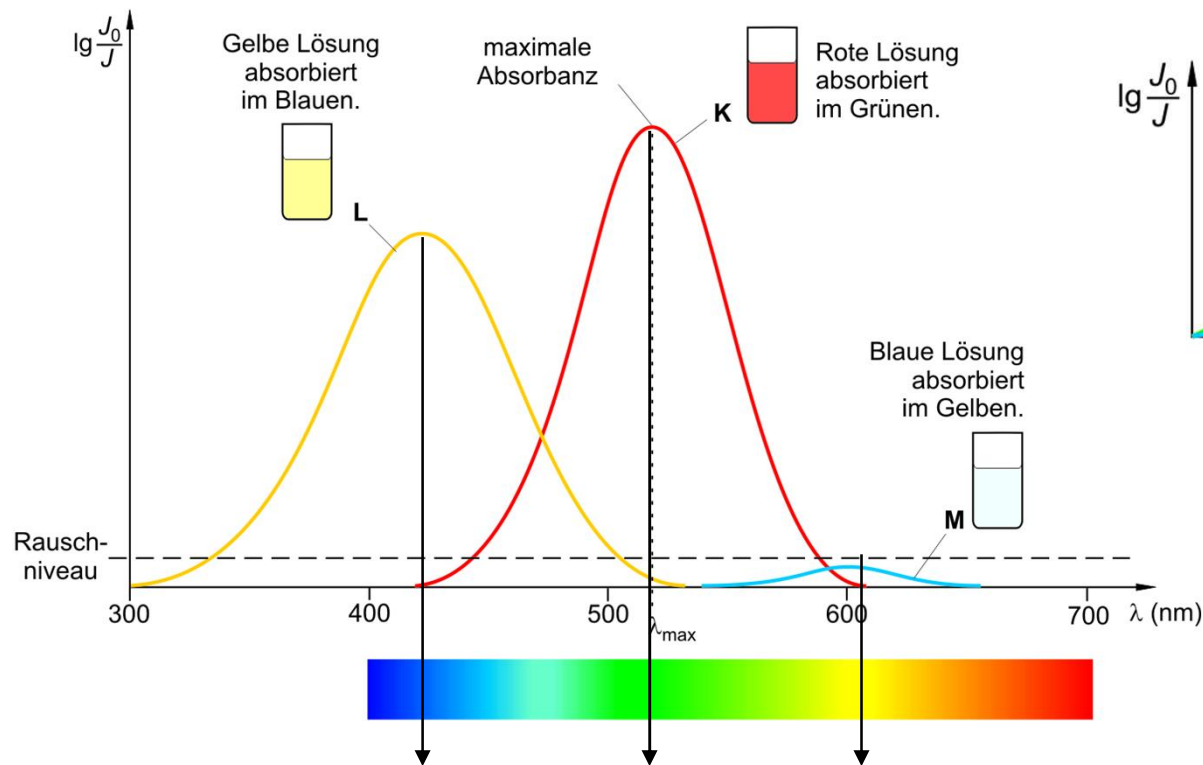
E

A

Maß der Absorption	Durchlässigkeit (Transmission) J/J_0	J_0/J	Absorbanz $\lg (J_0/J)$
Keine ($J=J_0$)	1	1	0
90 % $J=J_0/10$	0,1	10	1
Vollständige ($J=0$)	0	∞	∞

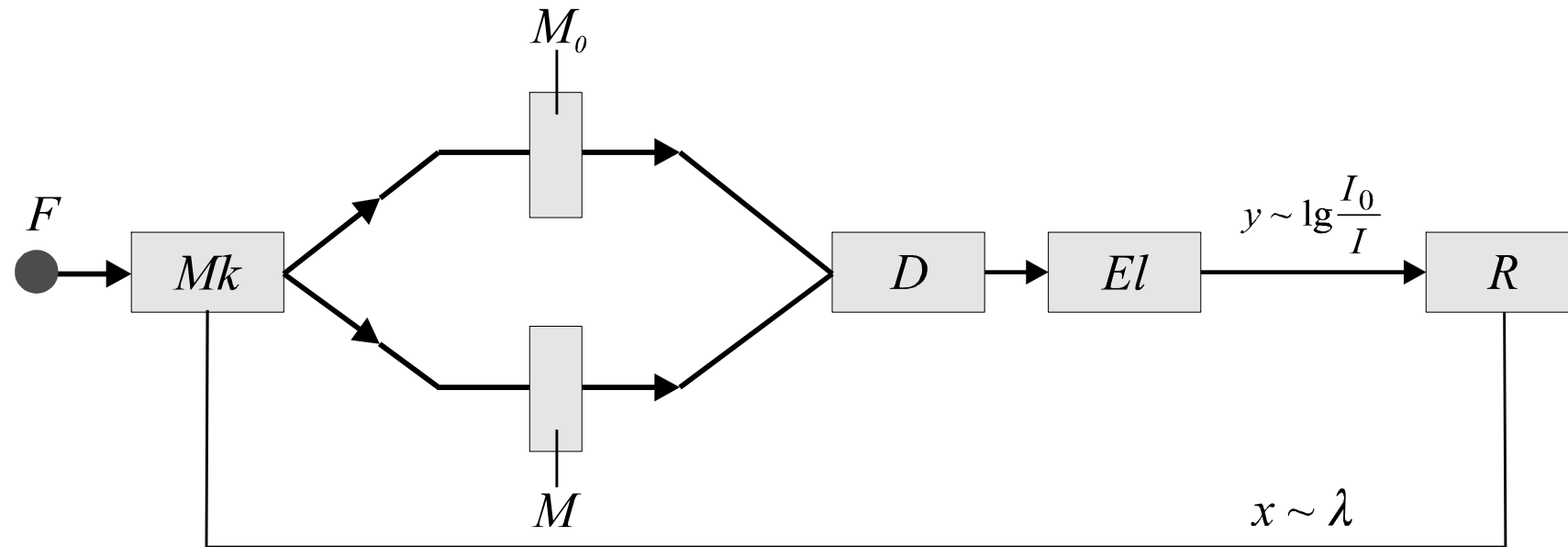
Absorptionsspektrum

wie groß ist die Spitze:
quantitative Analyse

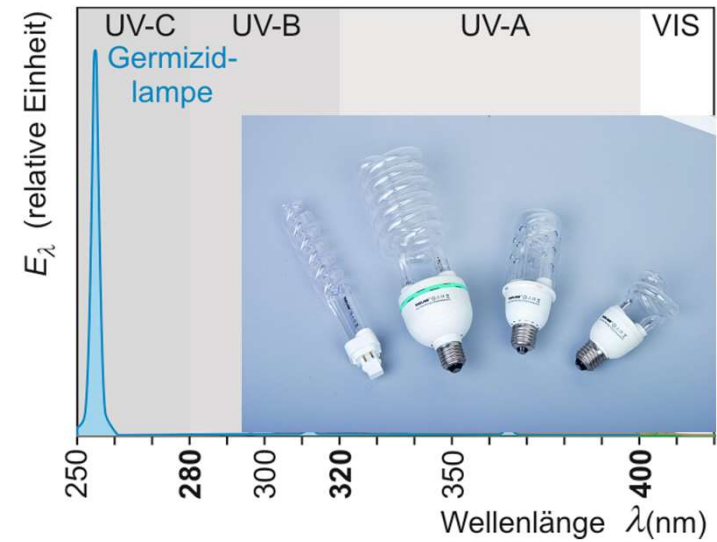
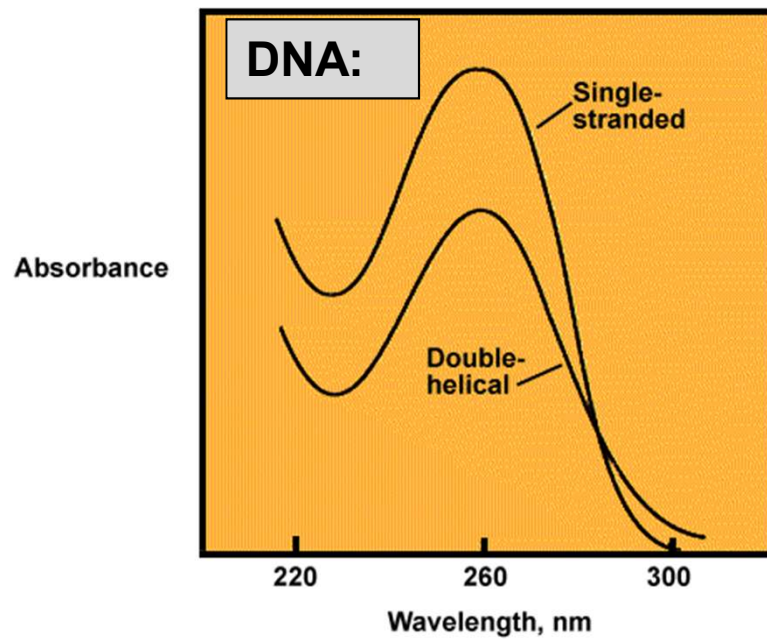
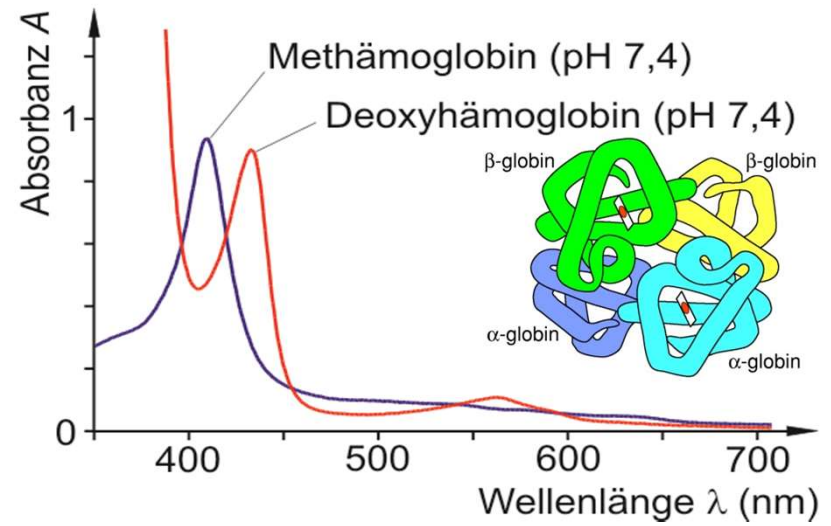
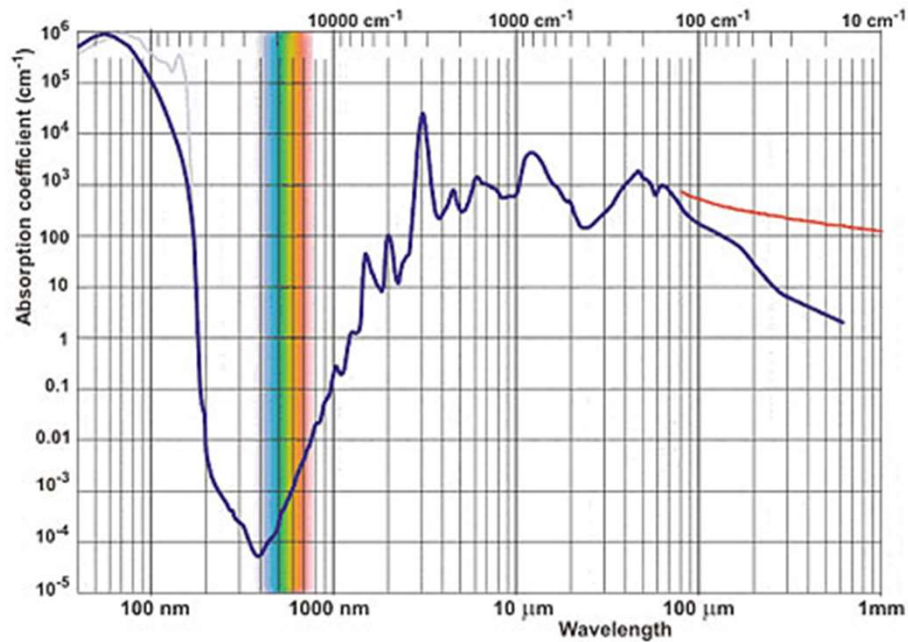


wo ist die Spitze: **qualitative Analyse**

Das Messgerät: Absorptionsspektrophotometer

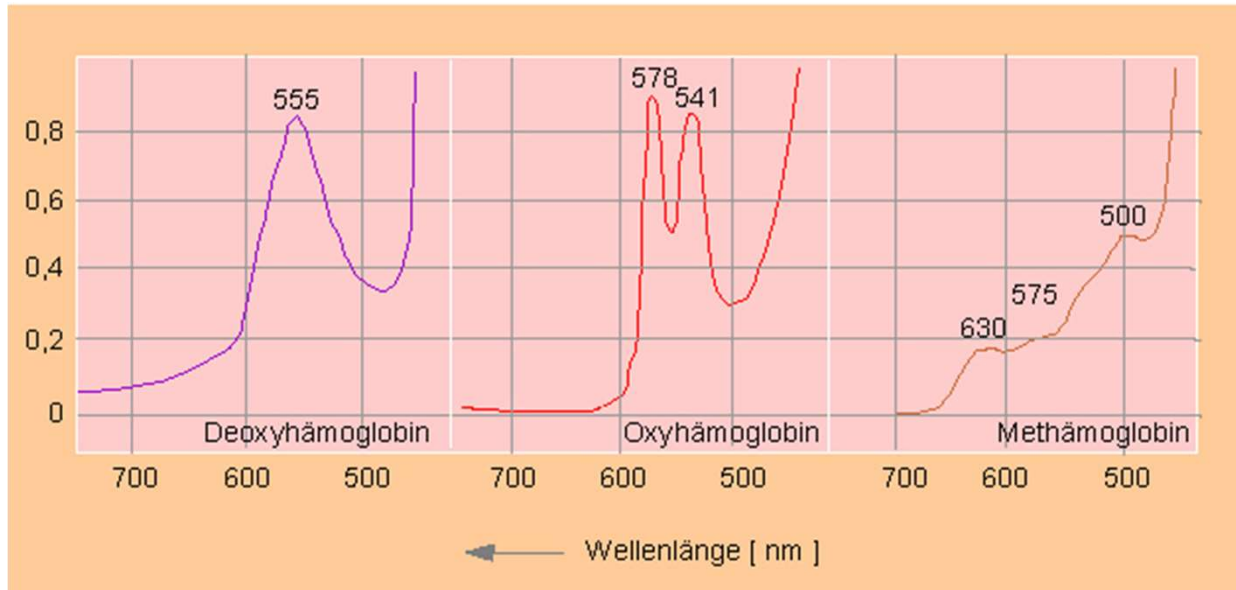


- F : Lichtquelle (kontinuierliches Spektrum)
- Mk : Monokromator (Aufspaltung des Spektrums der Lichtquelle und Auswahl der Wellenlänge zur Durchleuchtung der Probe)
- M_0 : Referenzlösung (z.B. Lösungsmittel)
- M : die zu messende Lösung
- D : Detektor (photoelektrische Umwandlung)
- El : elektronische Einheit (Verstärkung und Herstellung des der Extinktion proportionalen elektrischen Signals)
- R : Registration



Anwendungen

Bestimmung des Sauerstoffgehaltes von Gewebe



Charakterisation die Frische von Fleisch

Konz. von Deoxy und Oxy-Myoglobin

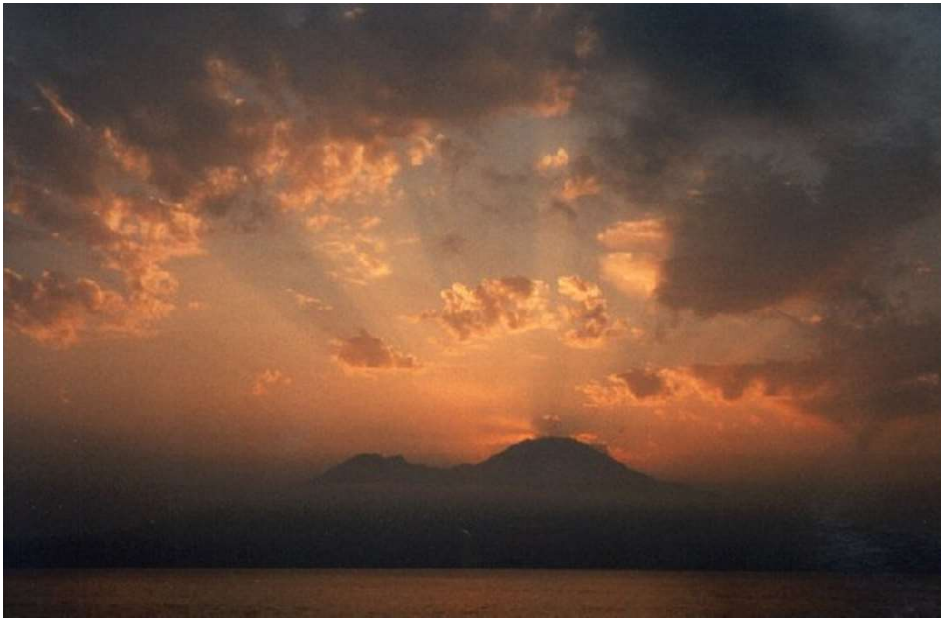
Konz. von NO-Myoglobin

...

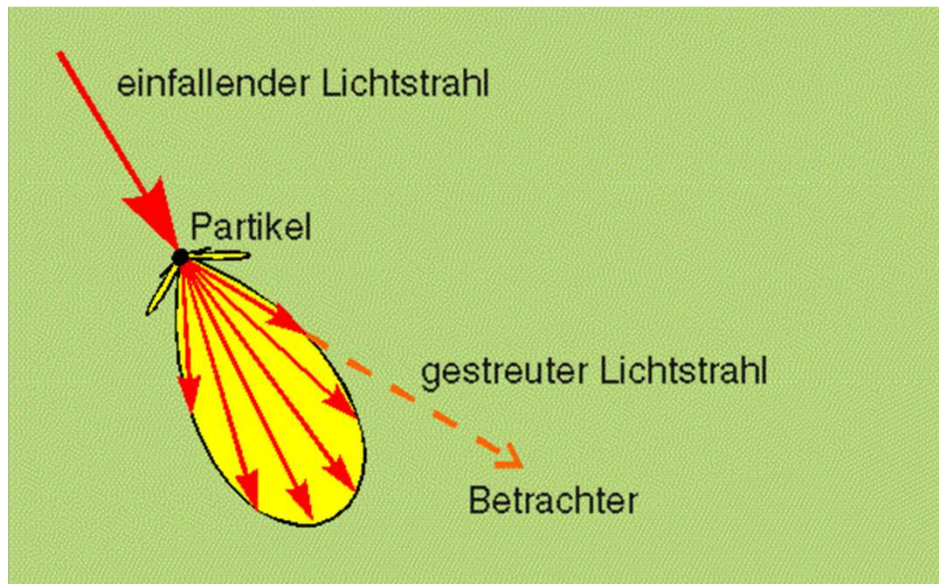


Sterilisation

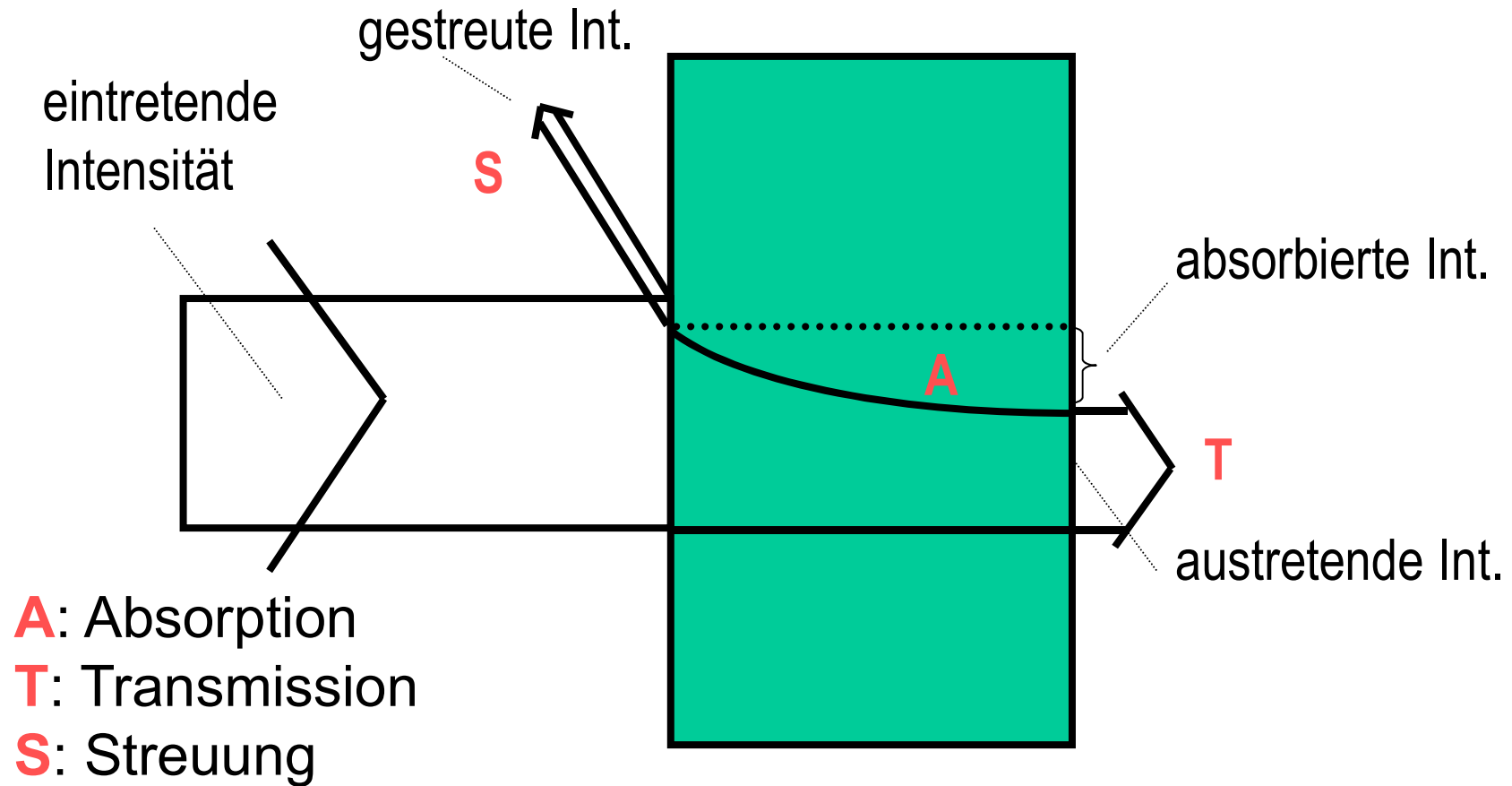
Germizidlampe emittiert
wo die DNS absorbiert



Lichtstreuung



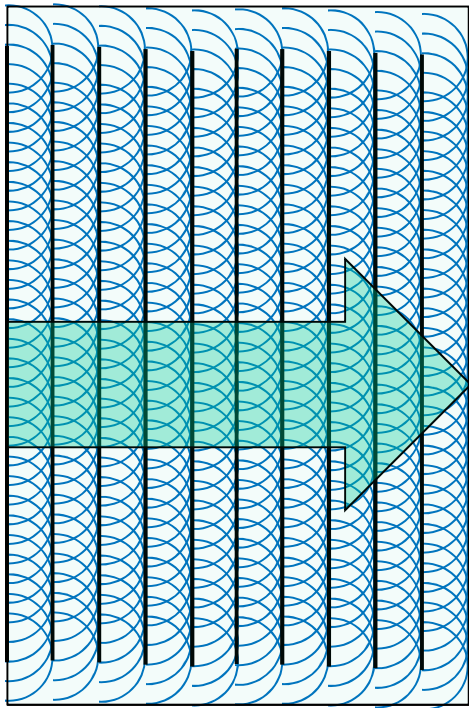
Grunderscheinungen



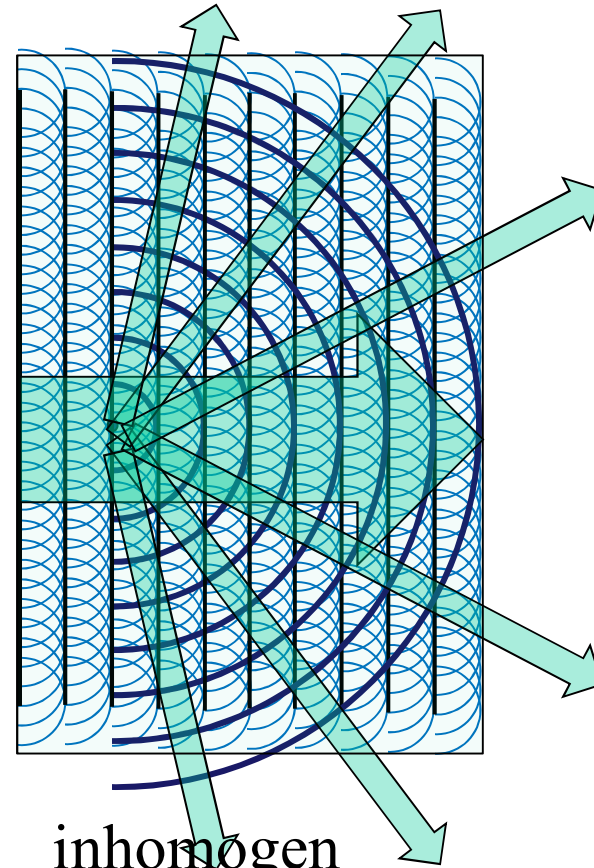
Lichtstreuung:

Ablenkung des Lichtes an kleinen Teilchen
(Inhomogenitäten)

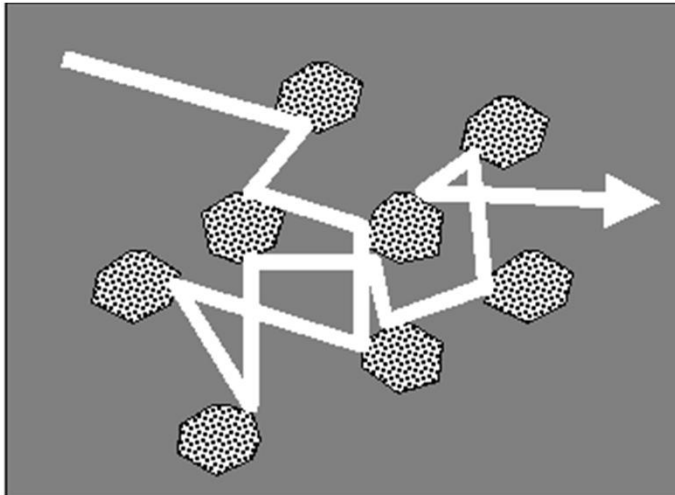
Huygens Fresnel Prinzip



homogen



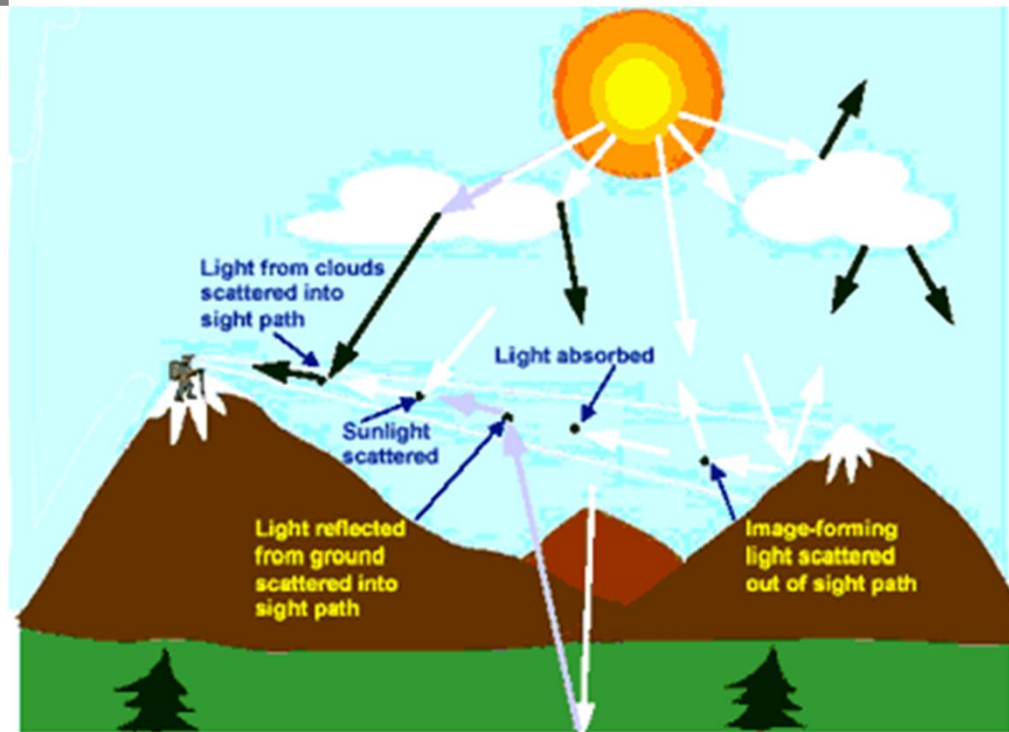
inhomogen



Lichtstreuung:
Ablenkung des Lichtes an
 kleinen Teilchen oder rauen
 Oberflächen (Inhomogenitäten)

(Bis jetzt nur geradlinige
 Ausbreitung des Lichtes
 mit Reflexion an
 Grenzflächen)

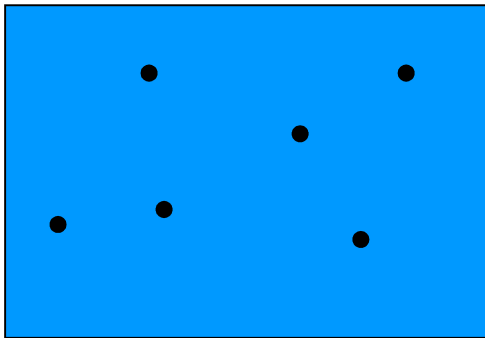
Durch Lichtstreuung
 wird gerichtetes
 Licht in **diffuses**
Licht verwandelt.



Inhomogenitäten

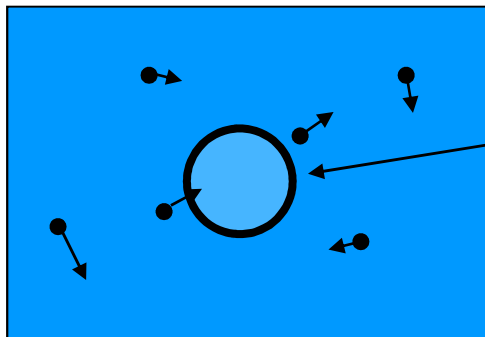
“in der Größenordnung der Wellenlänge des Lichtes”
streuen Licht

räumliche Inhomogenitäten – **statische** Lichtstreuung



Teilchen in einer Lösung/Gas

zeitliche Inhomogenitäten/Fluktuationen – **dynamische**
Lichtstreuung



Beobachtungsvolumen

elastische Lichtstreuung

ohne Energieübertragung auf das Streuteilchen
die Photonenenergie/Wellenlänge bleibt

Rayleigh- und Mie- Streuung

inelastische Lichtstreuung

die Photonenenergie verkleinert sich, d.h.
die Wellenlänge vergrößert sich (Stokes)

Raman-Streuung



Elastische Lichtstreuung

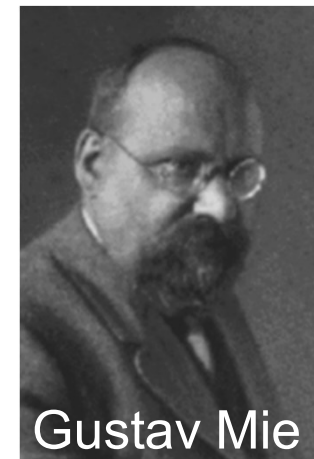
Rayleigh-Streuung

Wechselwirkung mit Teilchen dessen Durchmesser viel kleiner als die Wellenlänge ist ($d < 0.1 \lambda$).

Die gestreute Intensität ist stark wellenlängeabhängig ($1/\lambda^4$)

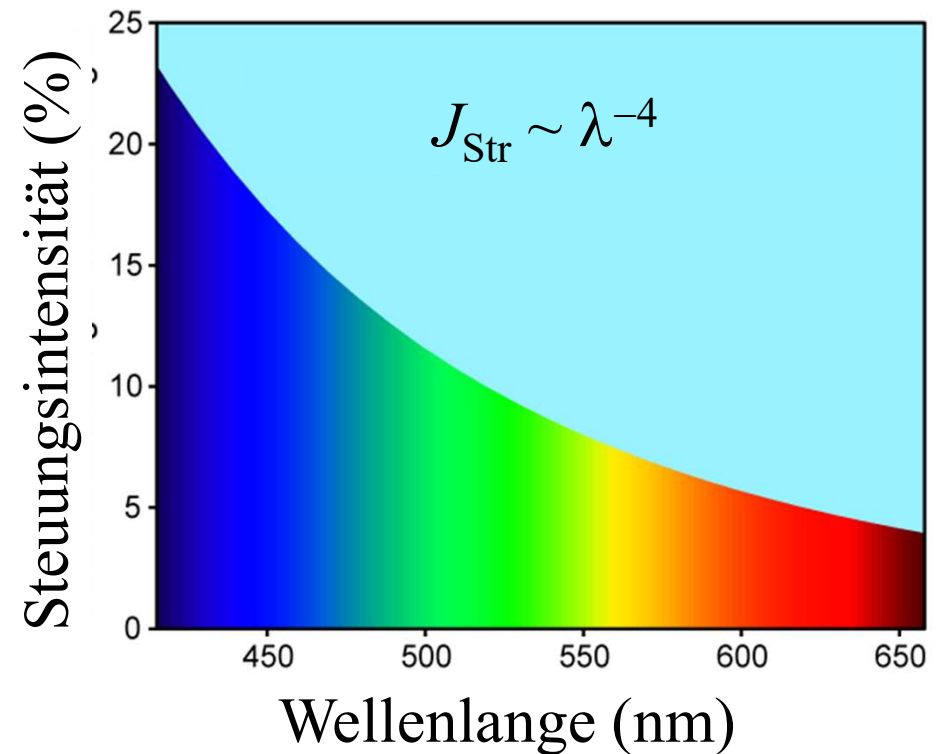
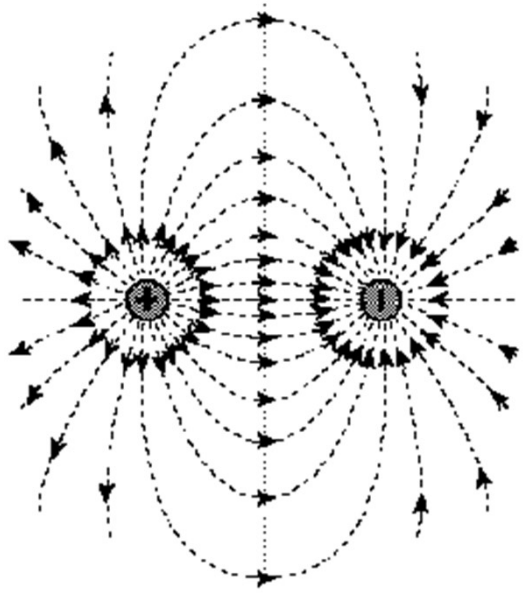
Mie-Streuung

Der Durchmesser der Partikel ist in der Größenordnung der Wellenlänge ($0.1 \lambda < d < 10 \lambda$)

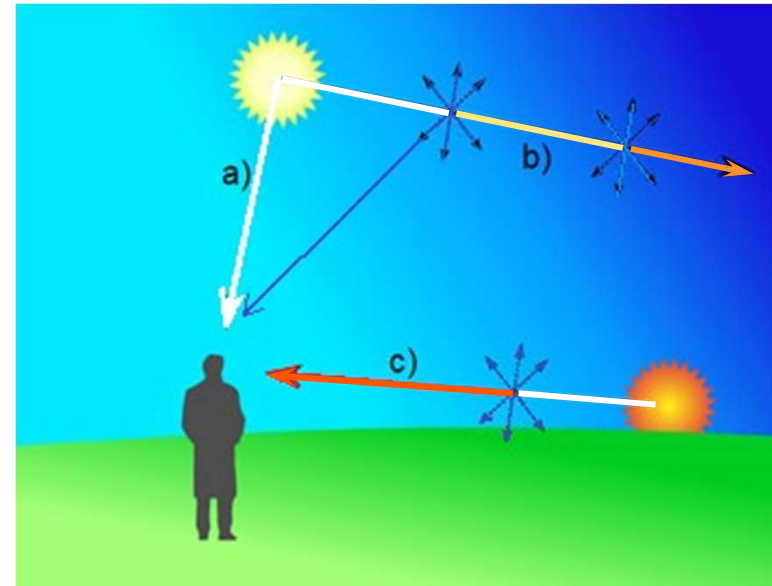


Rayleigh-Streuung

Licht induziert in Atomen, Molekülen und kleinen Teilchen ein elektrisches Dipolmoment, das aufgrund der Schwingung des elektrischen Feldvektors der elektromagnetischen Strahlung ebenfalls schwingt, wodurch das Molekül selber elektromagnetische Strahlung emittiert.

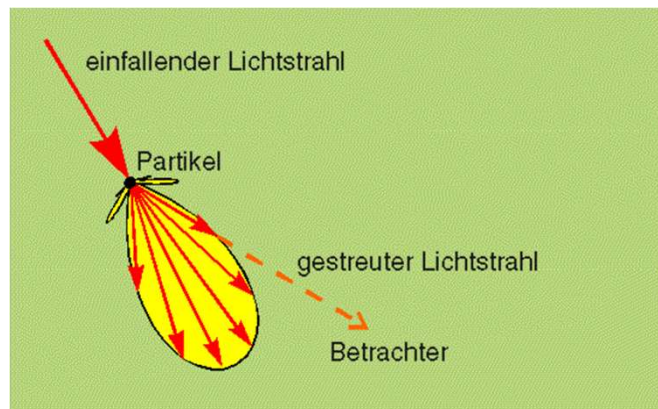


Diese Rayleigh-Streuung ist für den blauen Himmel und das rötliche Licht am Morgen und am Abend verantwortlich. Ist die Atmosphäre dichter, dann nimmt die Streuung zu.



Mie-Streuung

Bei größeren Teilchen gilt die Dipolnäherung nicht mehr, das heißt das induzierte elektrische Dipolmoment kann nicht mehr mit einem Vektor beschrieben werden. Vielmehr kommt es zur Interferenz der von den unterschiedlichen Streuzentren emittierten Strahlung, die charakteristisch ist für Durchmesser und Form des streuenden Teilchens (Mie-Streuung). Folglich können aus der winkelabhängig gemessenen, zeitlich gemittelten Streulichtintensität Information über Durchmesser und Struktur hinreichend großer Teilchen gewonnen werden.



In diesem Bereich ist die Streuung unabhängig von der Wellenlänge. Deshalb sieht das gestreute Licht weiss aus, zum Beispiel das an Wolken oder am Nebel gestreute Licht.

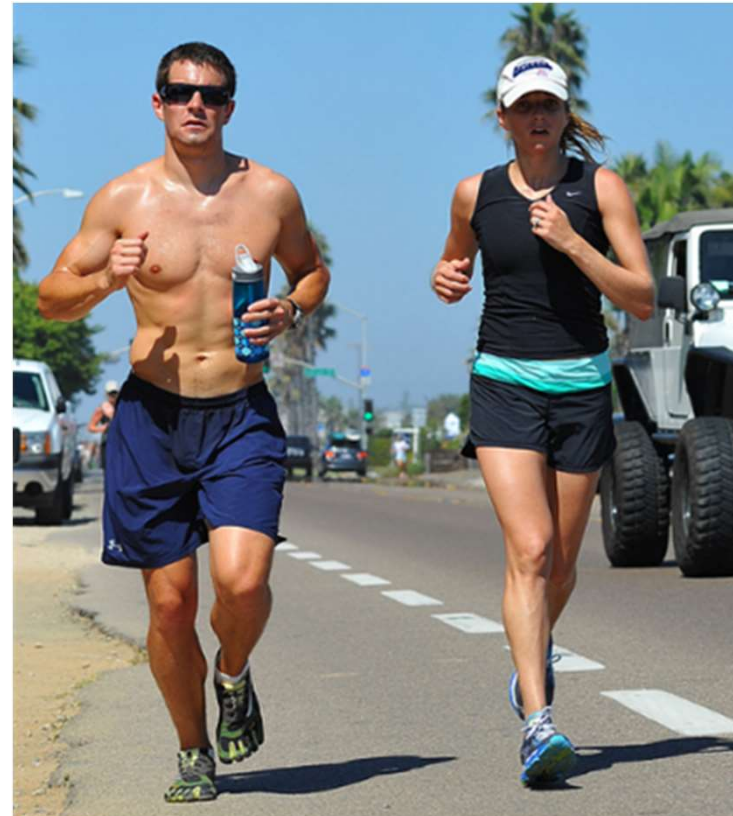


Messmethode:

Statische Lichtstreuung



Dynamische Lichtstreuung



Statische Lichtstreuungsmessung

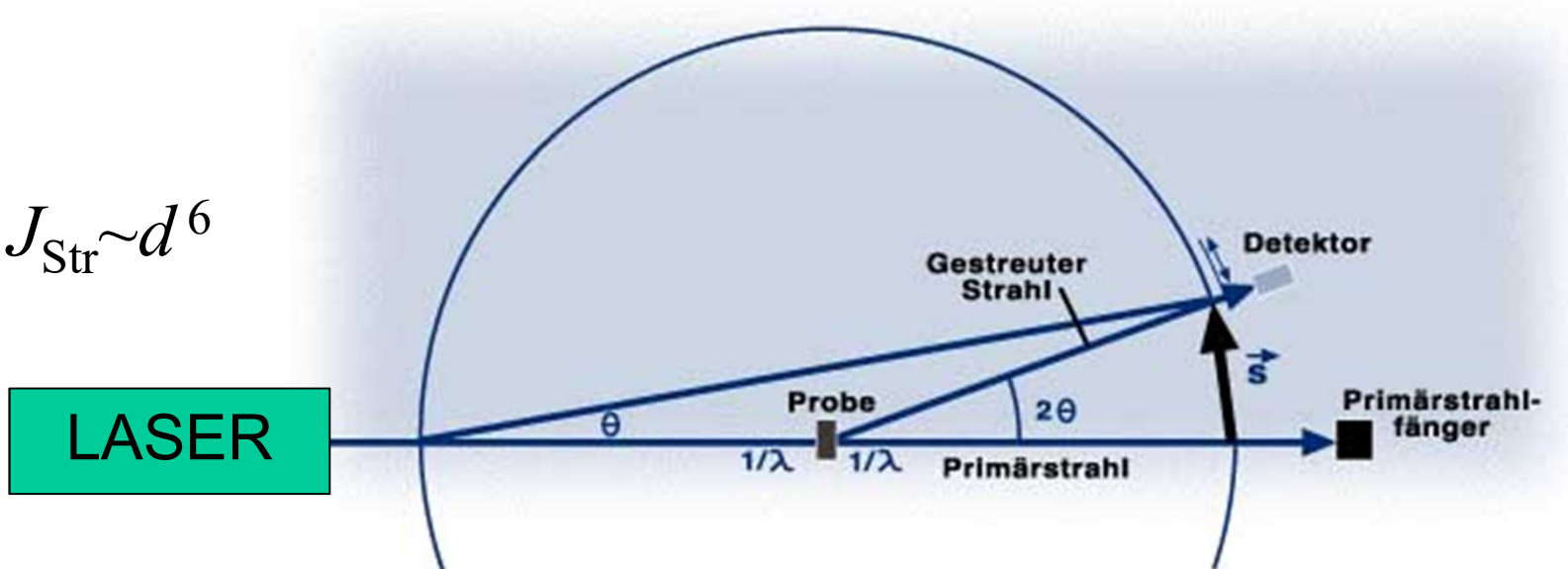
Die Streulichtintensität wird bei einem Winkel bestimmt.

Die Streuintensität nimmt mit der sechsten Potenz des **Durchmessers** zu!

Bestimmung von **Molmassen**



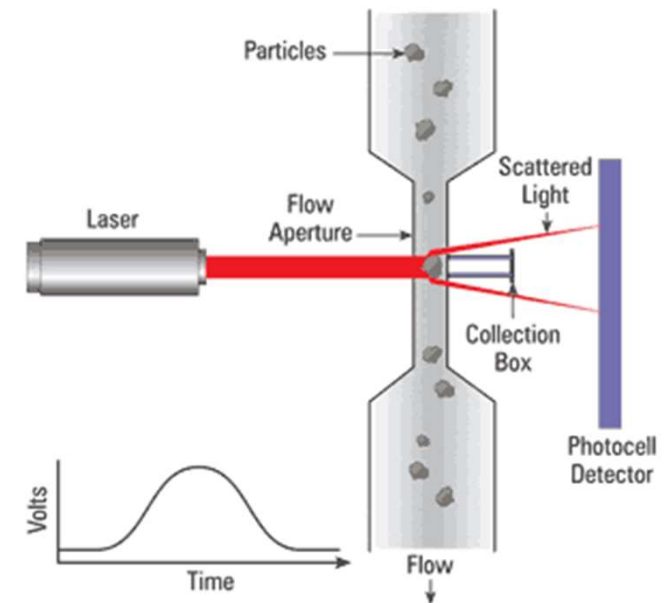
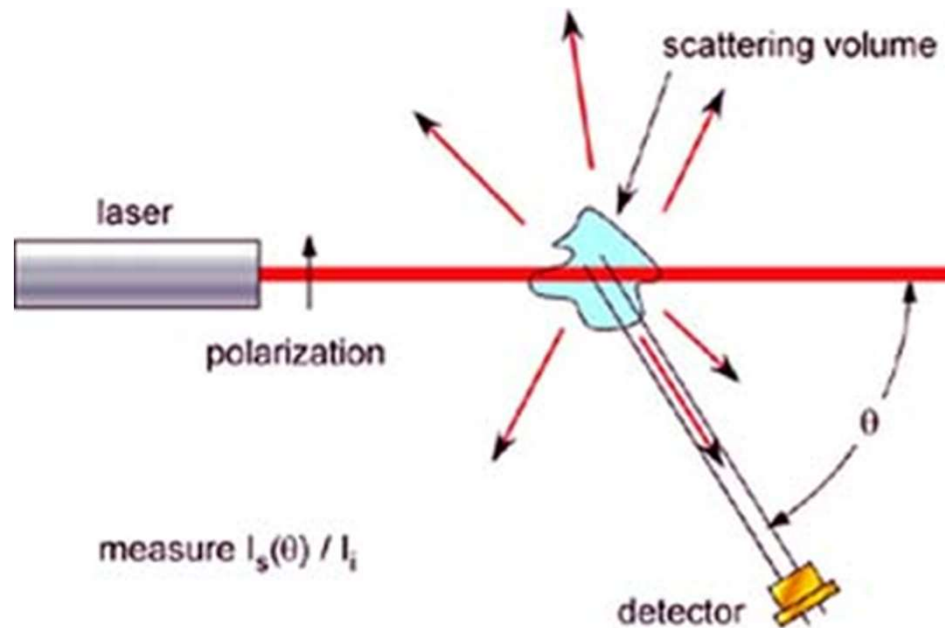
$$J_{\text{Str}} \sim d^6$$



Statische Lichtstreuungsmessung

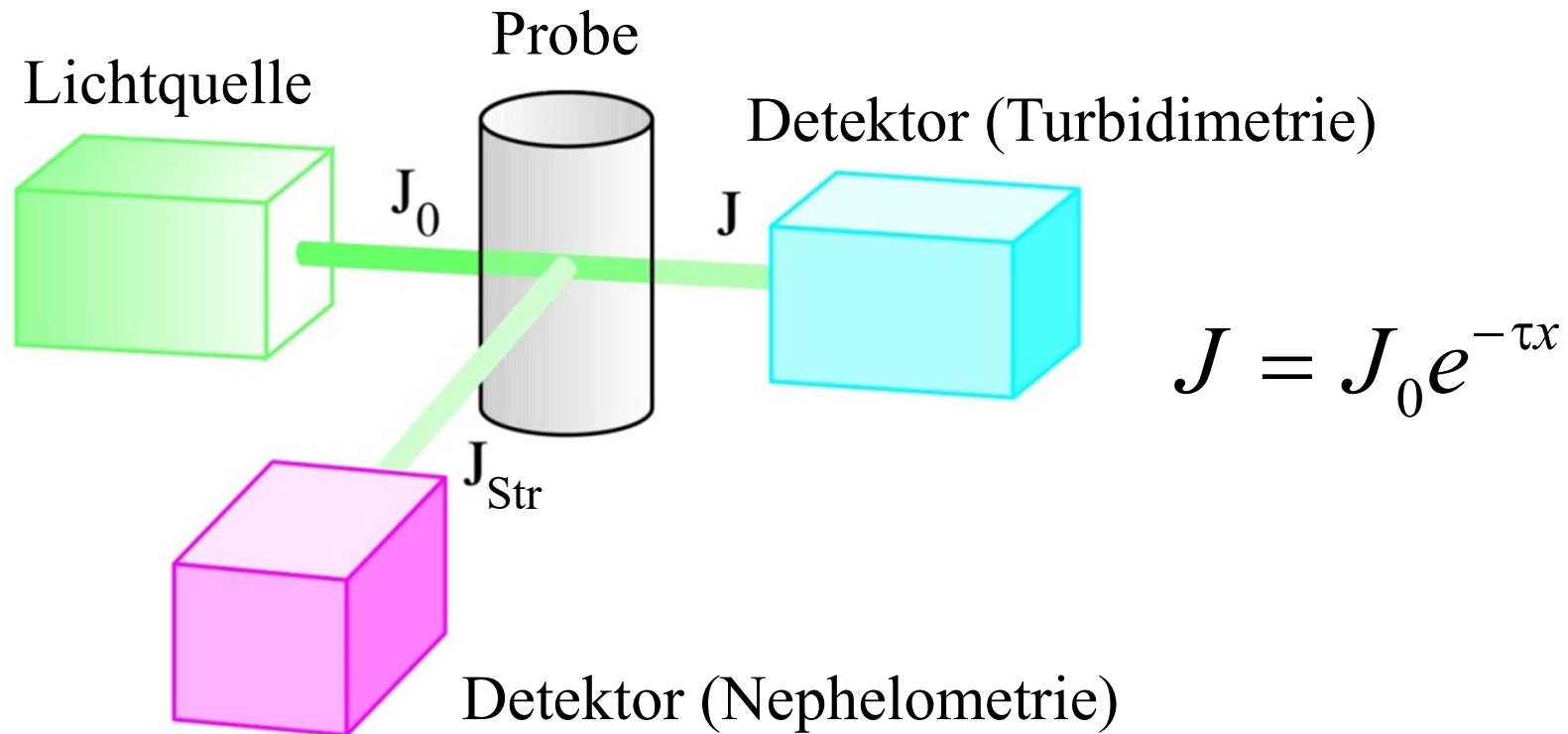
Anwendung

Die Charakterisierung der Mikrostruktur von Mikroemulsionen kann mit der Methode der statischen Lichtstreuung erfolgen, wenn die Strukturgrößen in der Größenordnung einiger 100 nm liegen.

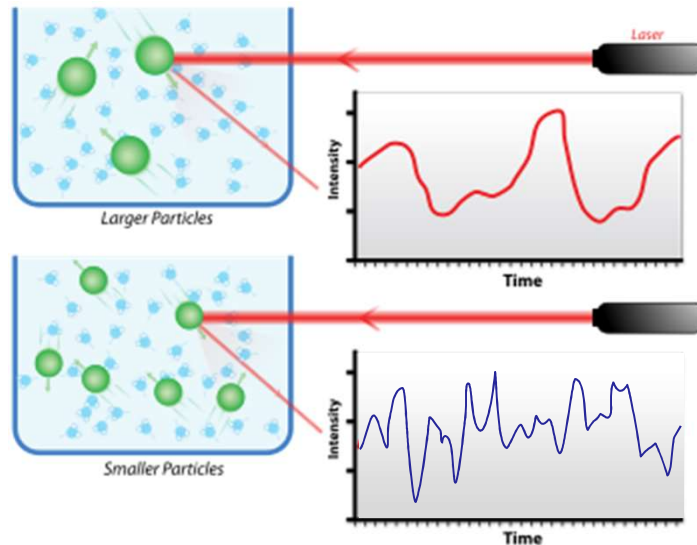


Teilchenzähler

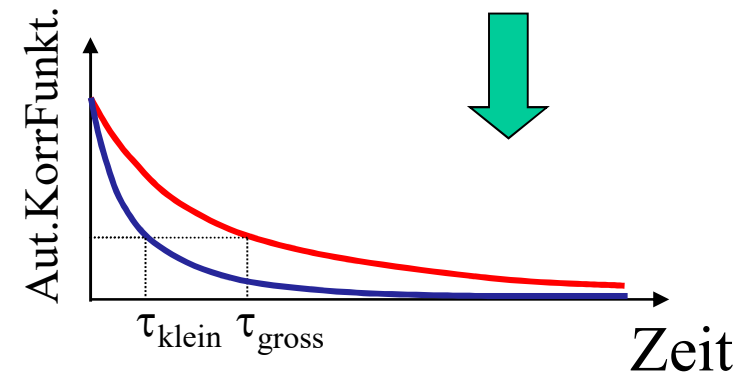
Messungsvariante bei statischer
Lichtstreuungsmessung:
Nephelometrie und Turbidimetrie (Trübung)



Dynamische Lichtstreuung



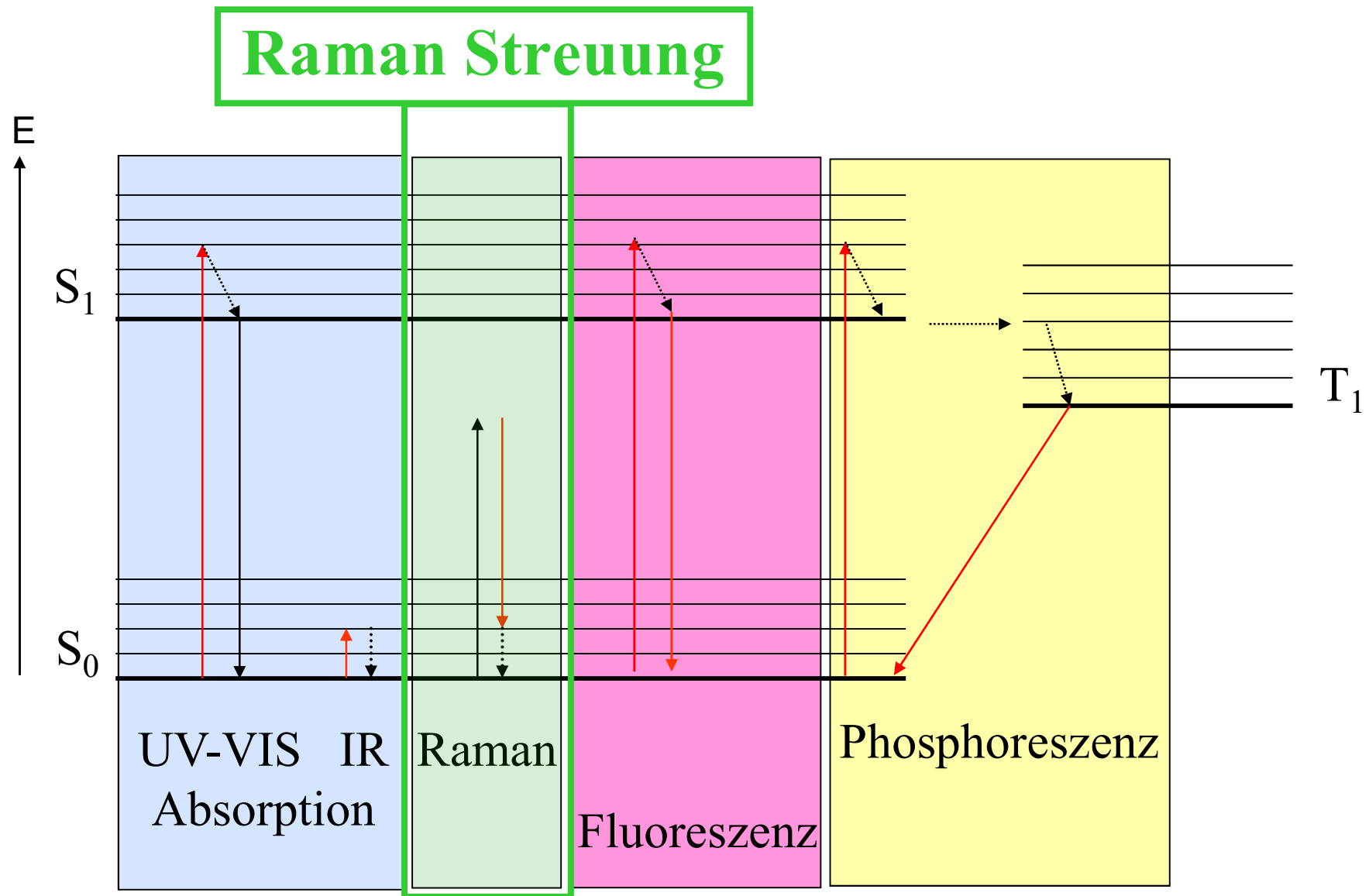
Fourier-Transformation → Auto-korrelationsfunktion



Partikel-
grösse $\leftarrow D \leftarrow \tau$
 R_H

Man bestimmt mit der dynamischen Lichtstreuung Diffusionskoeffizienten bzw. Verteilungen von Diffusionskoeffizienten. Mit der Stokes-Einstein-Beziehung lassen sich dann unter der Annahme, dass sphärische Teilchen vorliegen, aus den Diffusionskoeffizienten die hydrodynamischen Radien der diffundierenden Teilchen berechnen. → **Bestimmung der Partikelgrößenverteilung**

Nichtelastische Streuung: Raman-Streuung



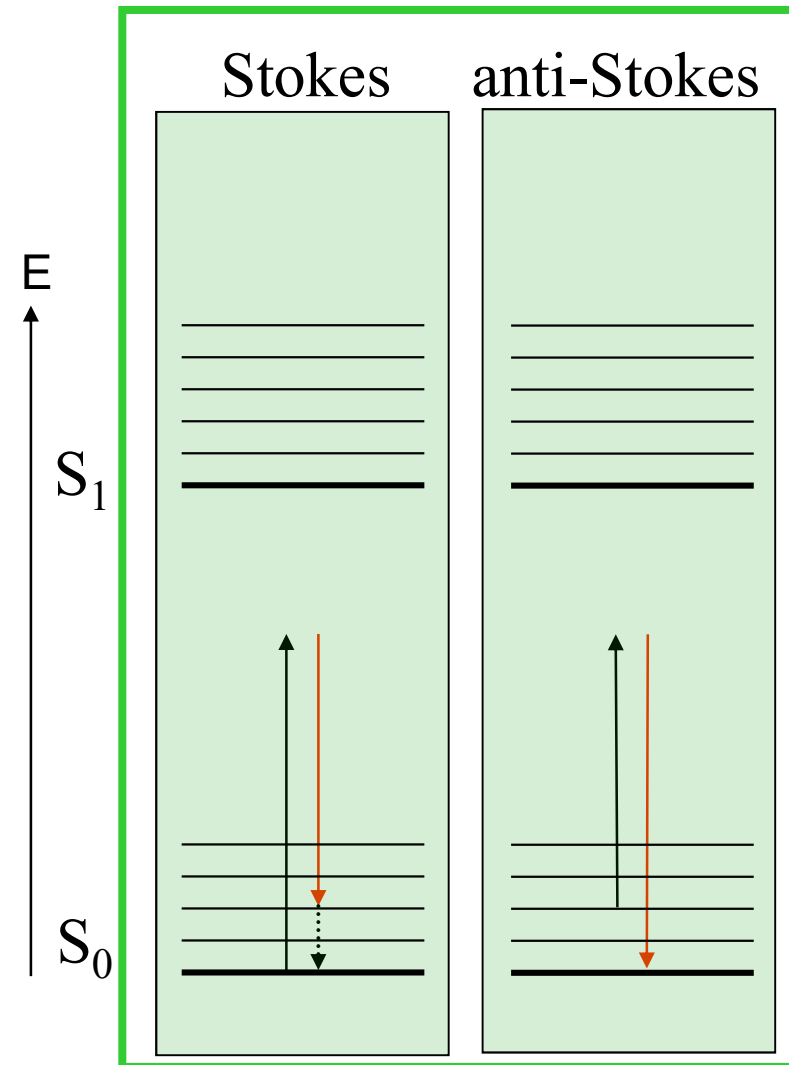
Raman-Streuung



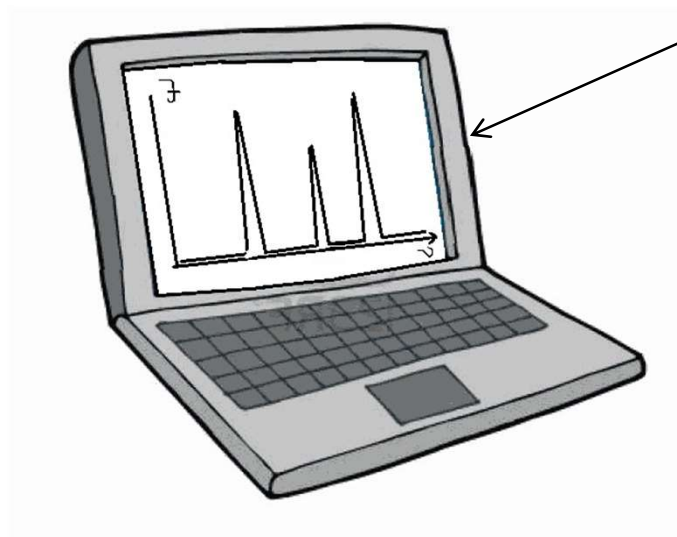
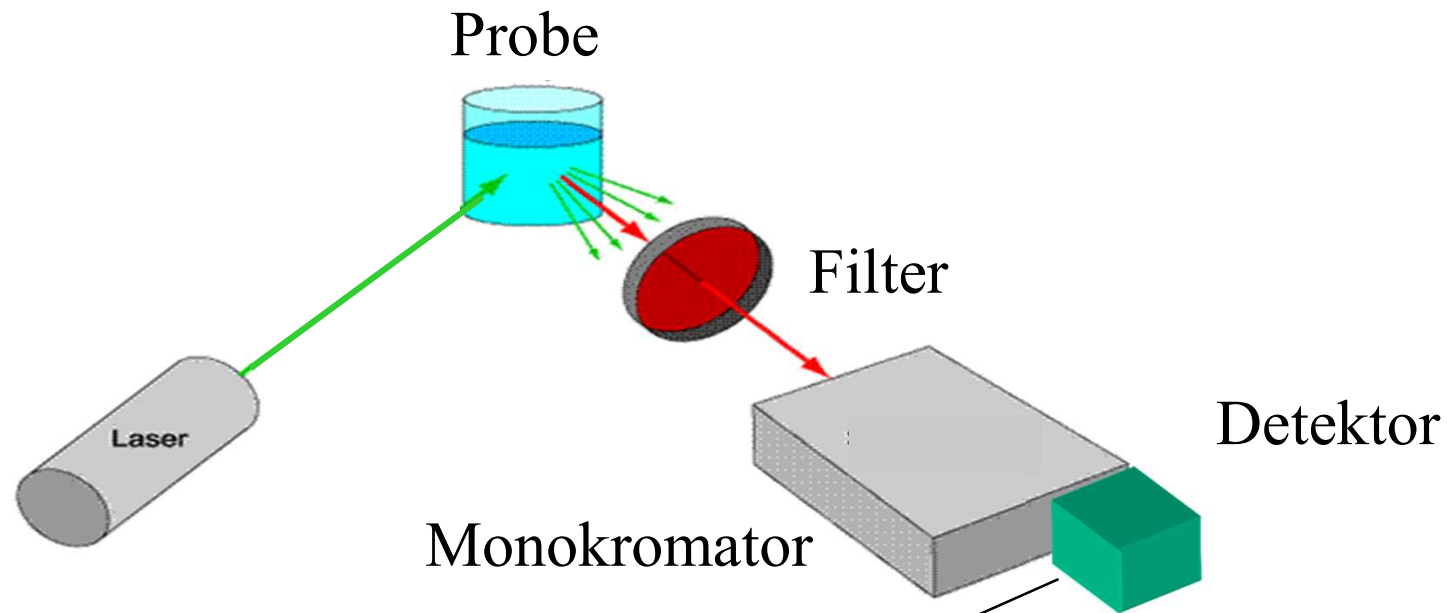
Bei der Raman-Streuung werden Moleküle in andere Vibrationszustand versetzt..

Die Moleküle nehmen hierbei einen Teil der Lichtenergie auf bzw. geben einen Teil ihrer Energie ab; die Wellenlänge des rückgestreuten Lichts wird durch die Streuung geändert.

Die Intensität um 2 bis 3 Größenordnungen geringer als bei der elastischen Streuung.



Raman Spektrometer



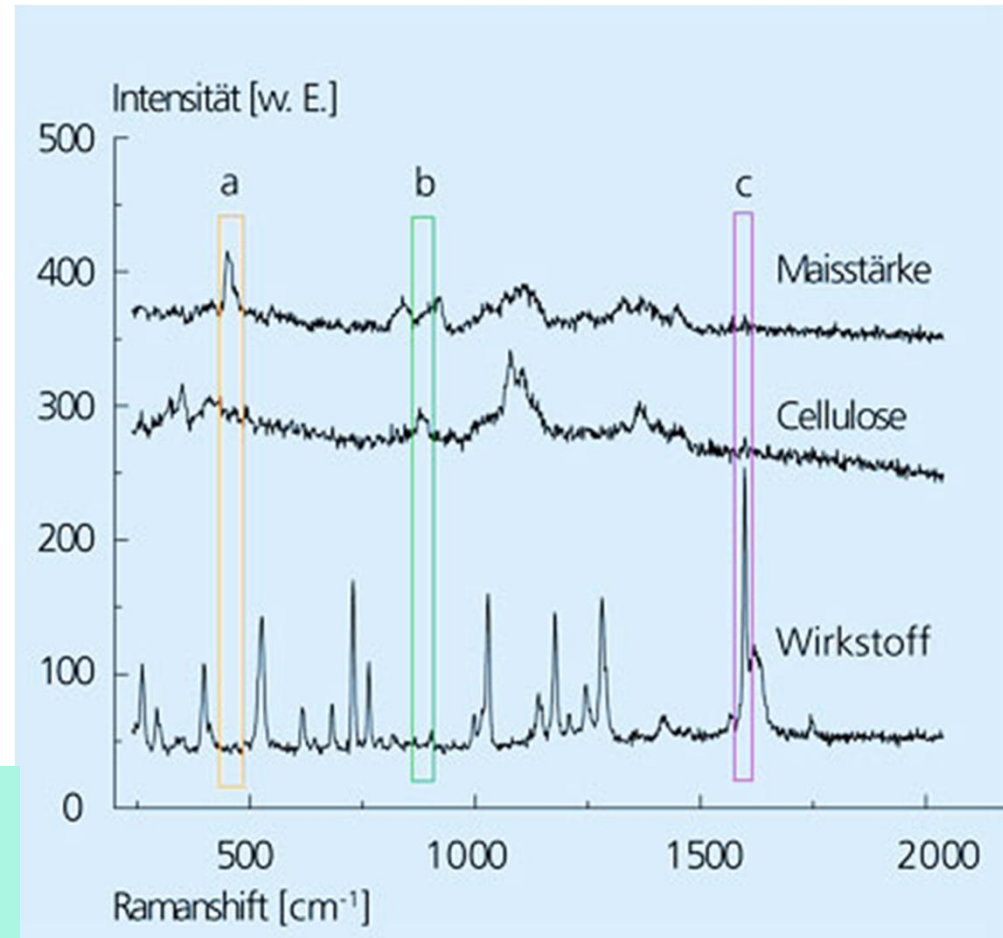
Raman-Streuung

Vibrationszustände
sind spezifisch für
die Moleküle.



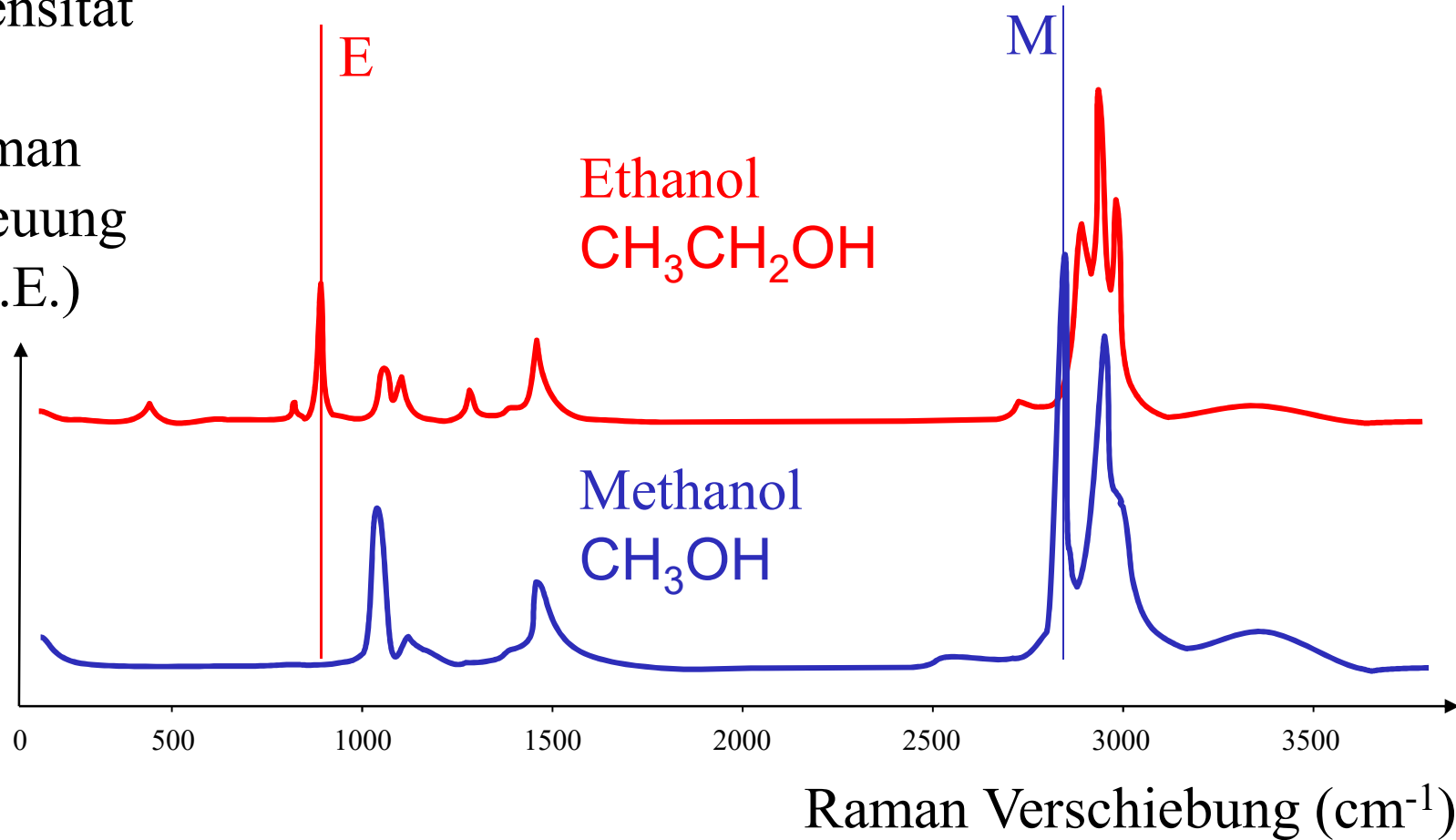
Raman
Spektroskopie

Wirkstoffgehalt
einer Tablette

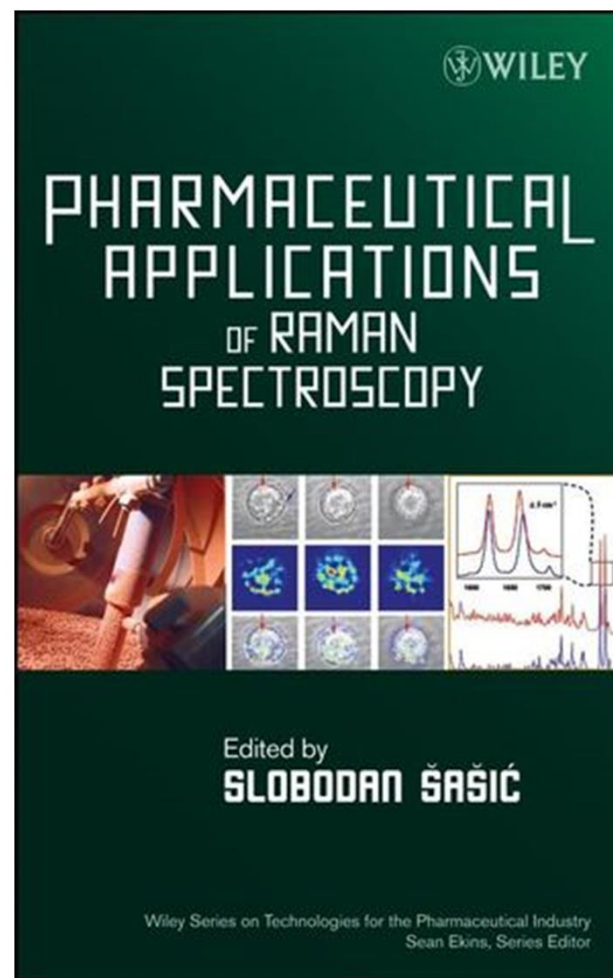
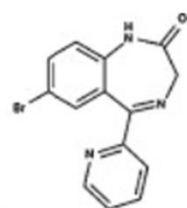
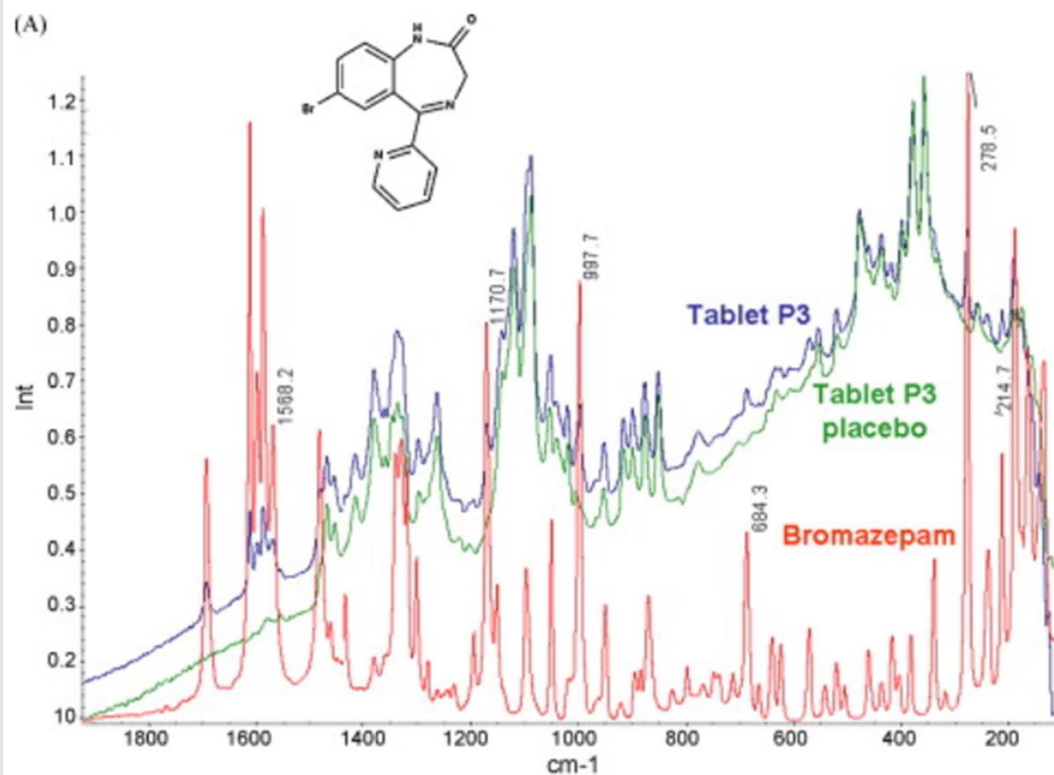
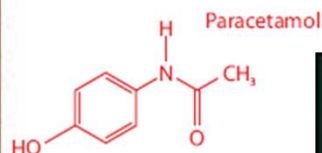
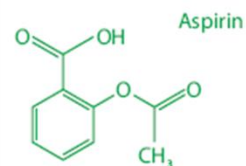
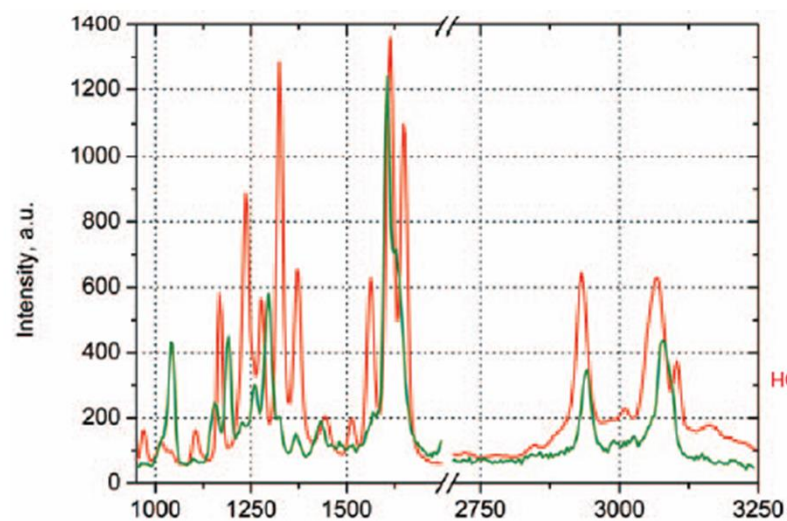


Beispiele für Raman-Spektren

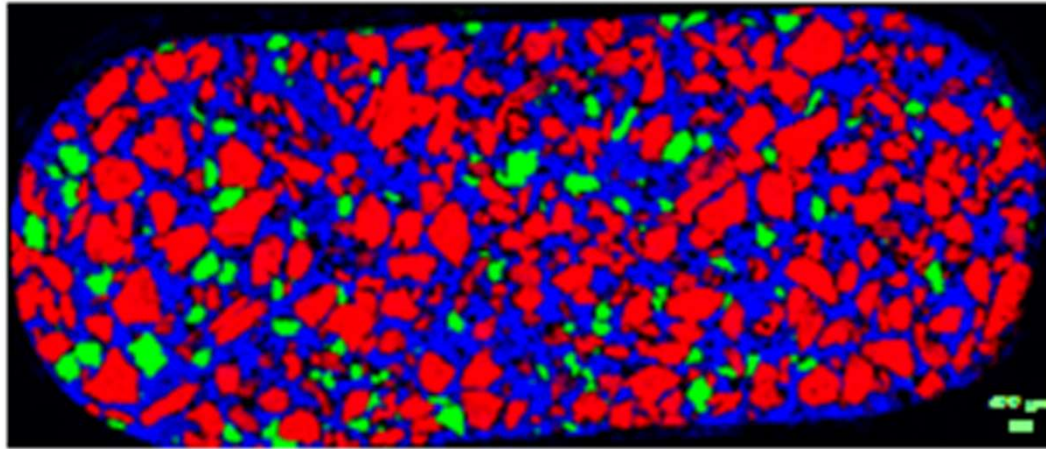
Intensität
der
Raman
Streuung
(rel.E.)



Wellenzahl: $\nu = \frac{1}{\lambda}$



Mit einem Mikroskop kombinierter Raman Spektrometer



Raman spektroskopisches Bild von einer pharmazeutischen Tablette. Die Verteilungen von Aspirin, Coffein, Paracetamol sind mit den Farben rot, grün bzw. blau bezeichnet.

Tragbare Raman Spektrometern für Stoffidentifizierung

