

# Biophysik für Pharmazeuten I.

2021/22 I.

Vorlesung 9

## **Absorption und Streuung des Lichtes**

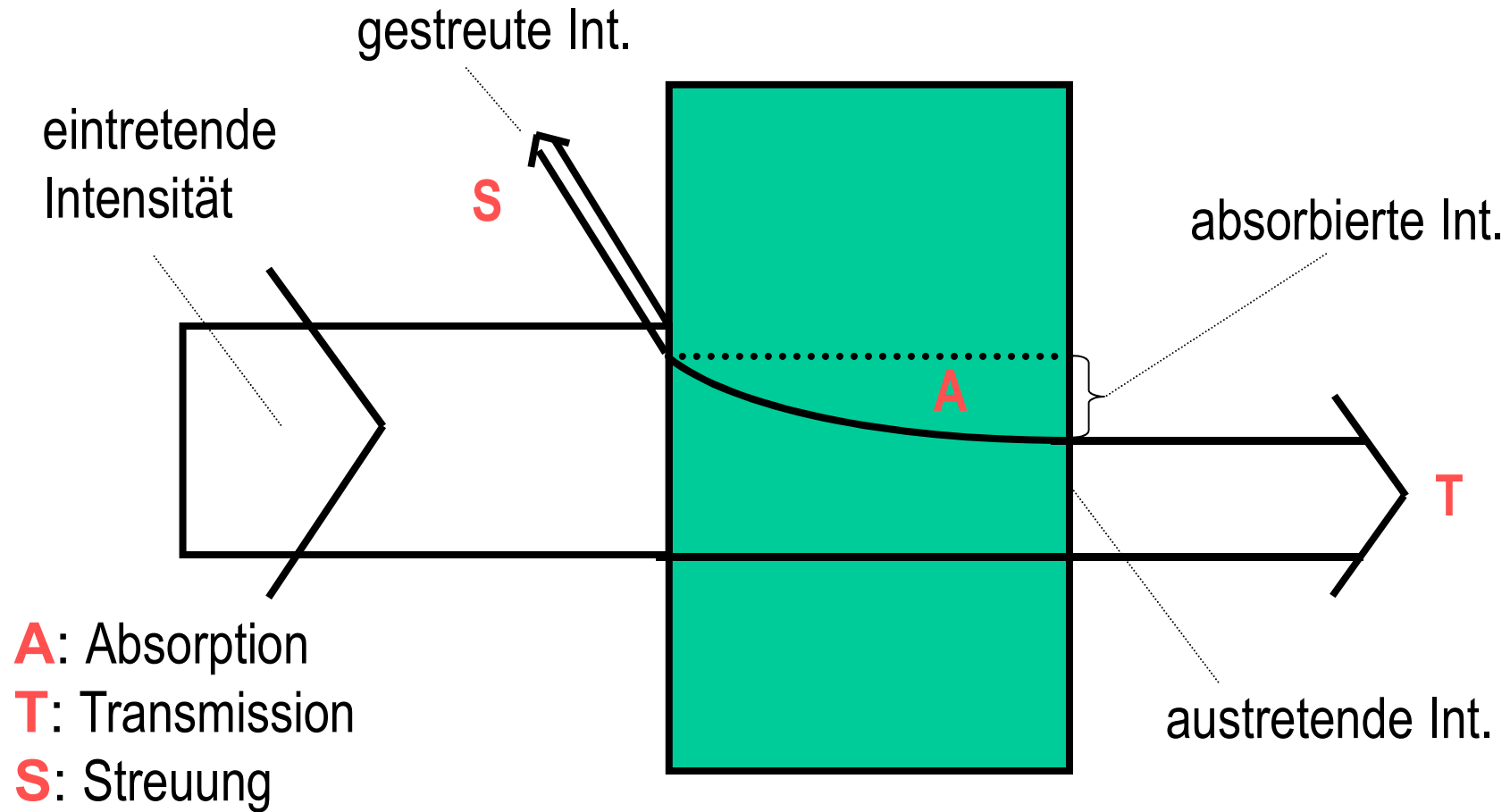


08.11.2021

# Absorption des Lichtes



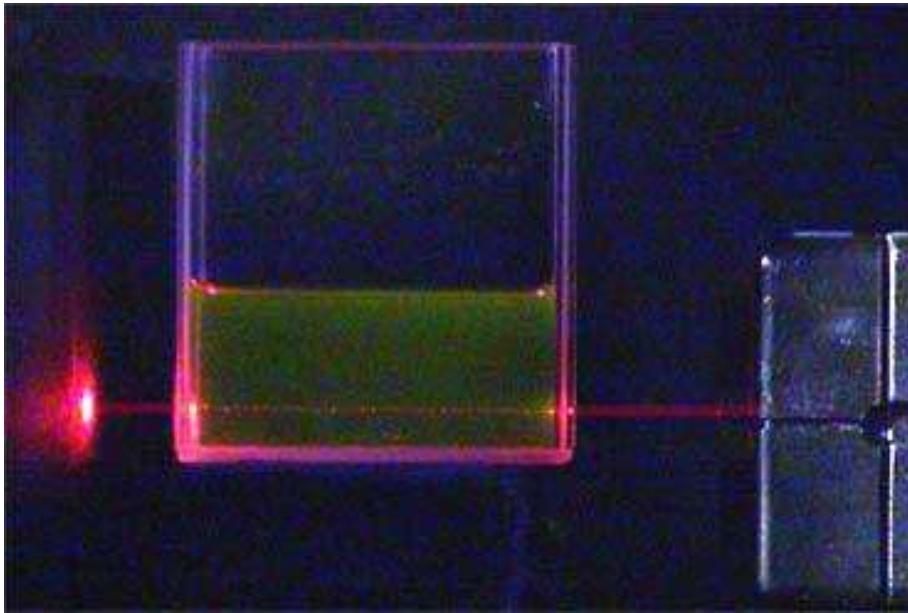
# Grunderscheinungen



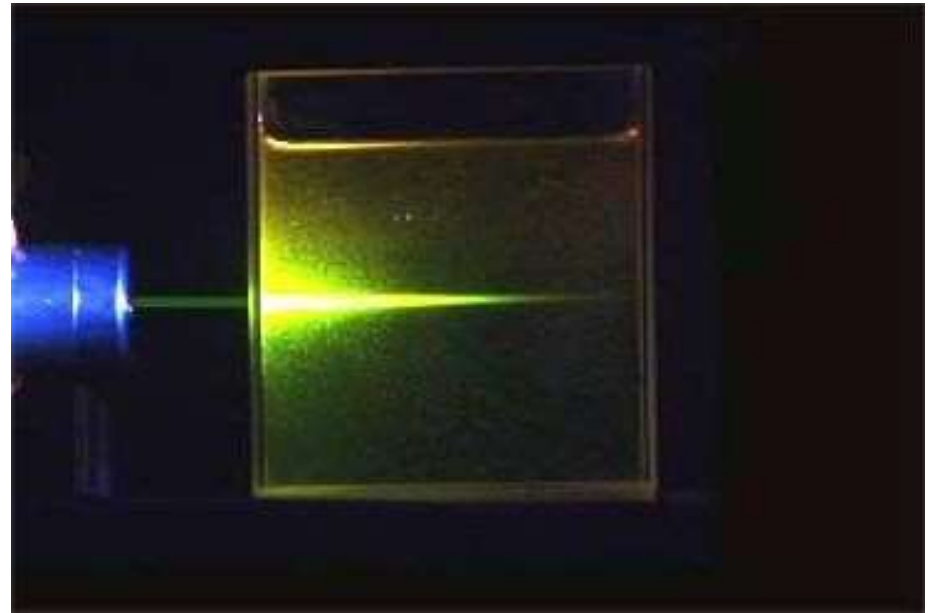
Annahme: Der größte Teil des Lichtes wird absorbiert oder durchquert.  
Die Streuung ist jetzt vernachlässigbar.



# 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

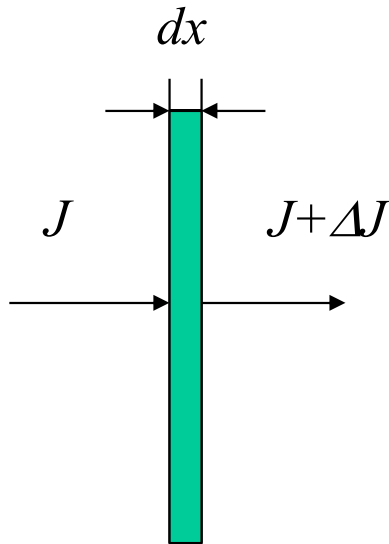
$dJ$ : Veränderung der Intensität ( $<0$ )

$J + dJ$ : die austretende Intensität

$$dJ = -\mu J dx$$

differenzierte Form des Schwächungsgesetzes

$\mu$ : charakterisiert das Medium (Schwächungsfaktor)



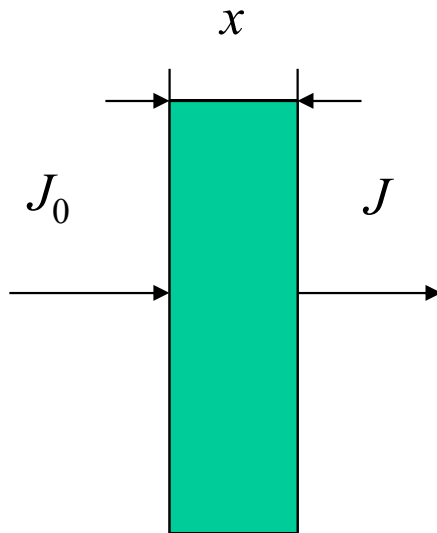
$$\frac{dJ}{dx} = -\mu J$$

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

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

Lösung dieser Differentialgleichung:

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



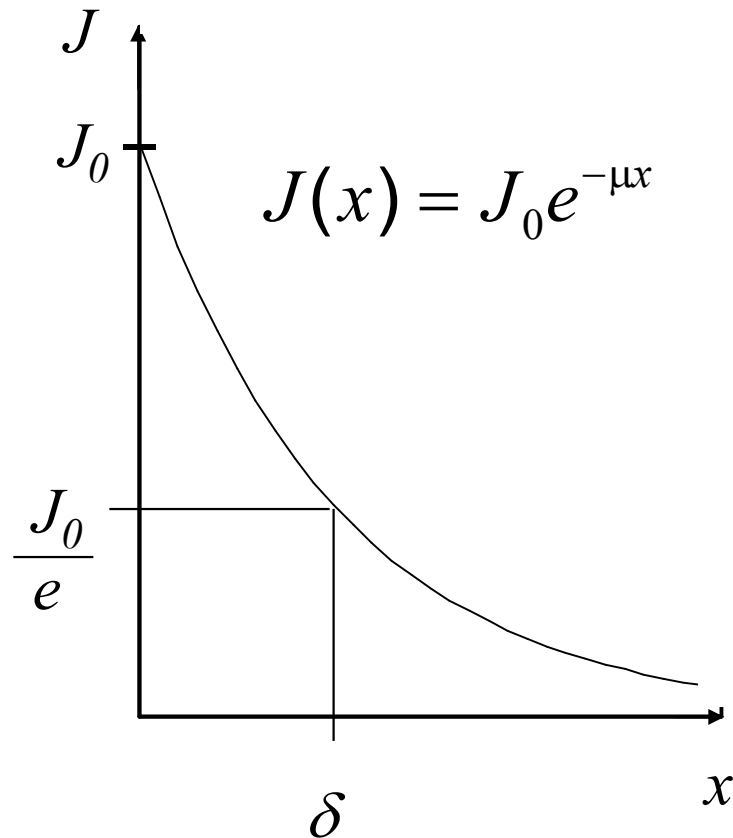
### das Schwächungsgesetz

$J_0$ : die eintretende Intensität

$J$ : die austretende Intensität

$\mu$ : der (lineare) Schwächungskoeffizient  
(Schwächungsfaktor, Absorptionskoeffizient),  
Einheit: 1/m, 1/cm

# Graphische Darstellung des Schwächungsgesetzes



Einheit von  $\mu$ : 1/m, 1/cm

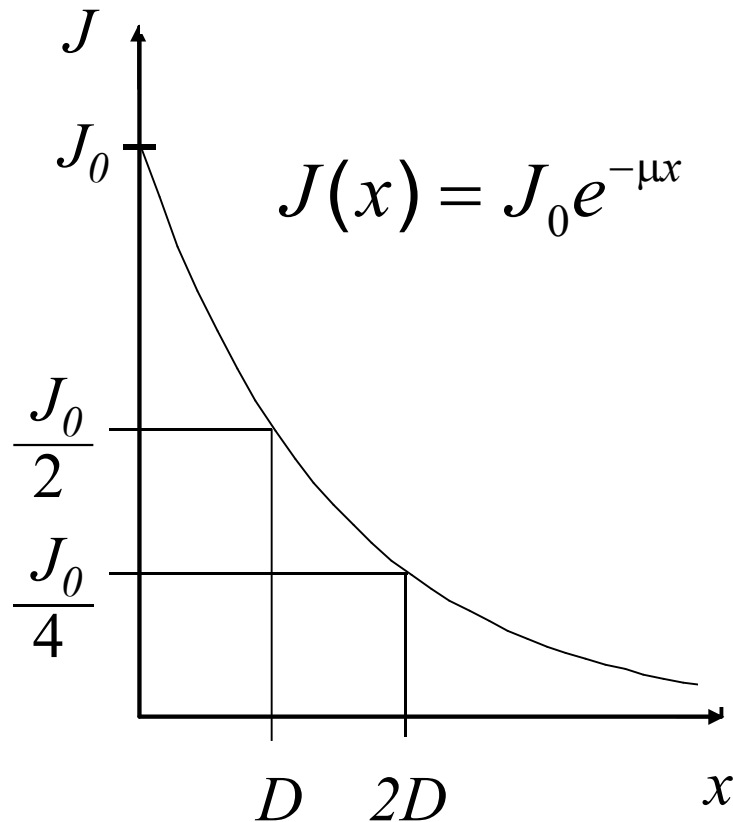
$\delta = 1/\mu$ ,  $\delta$ : eine spezielle Schichtdicke

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

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

$\delta$ : 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

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

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

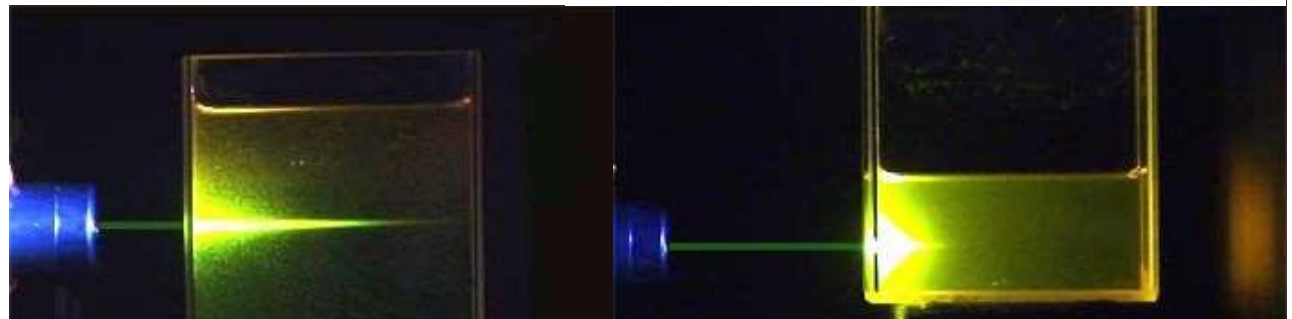
$$\mu\left(\text{Stoffart}, \frac{N}{V}; \lambda\right) = \begin{cases} \mu(\text{Stoffart}, c; \lambda) & \text{bei Lösungen} \\ \mu(\text{Stoffart}, \rho; \lambda) & \text{sonst} \end{cases}$$

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

c: Konzentration der Lösung

$\lambda$ : Wellenlänge

$\rho$ : 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:  $\varepsilon$  hängt von der Konzentration **nicht** ab

# Optische Dichte = Extinktion = Absorbanz

*OD*

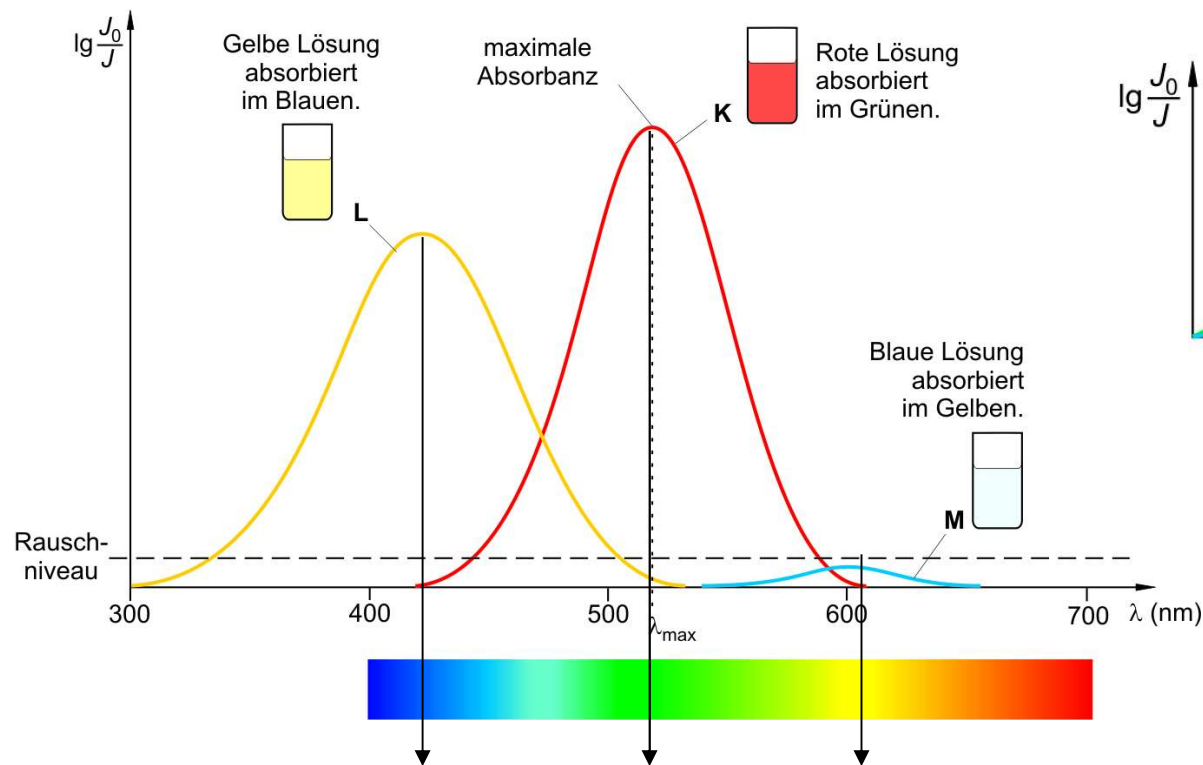
*E*

*A*

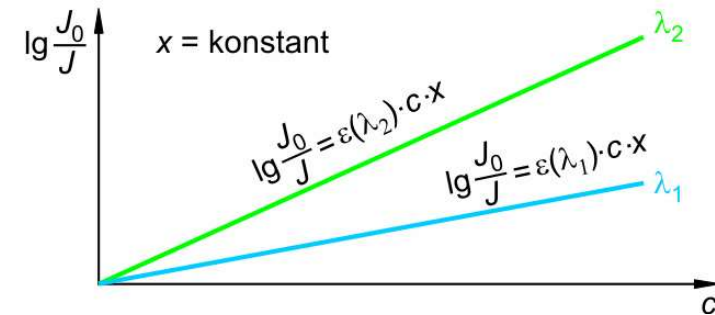
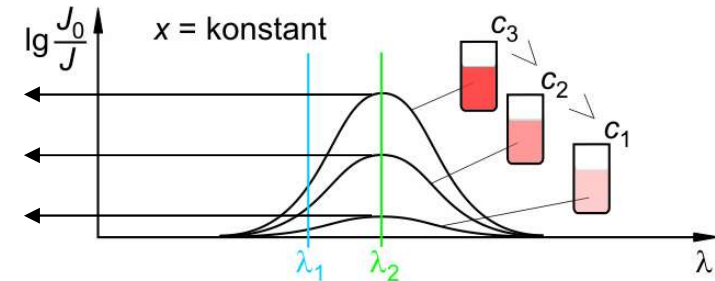
Maß der Absorption	Durchlässigkeit (Transmission) $J/J_0$	$J_0/J$	Absorbanz $\lg (J_0/J)$
Keine ( $J=J_0$ )	1	1	0
90 % $J=J_0/10$	0,1	10	1
Vollständige ( $J=0$ )	0	$\infty$	$\infty$

# Absorptionsspektrum

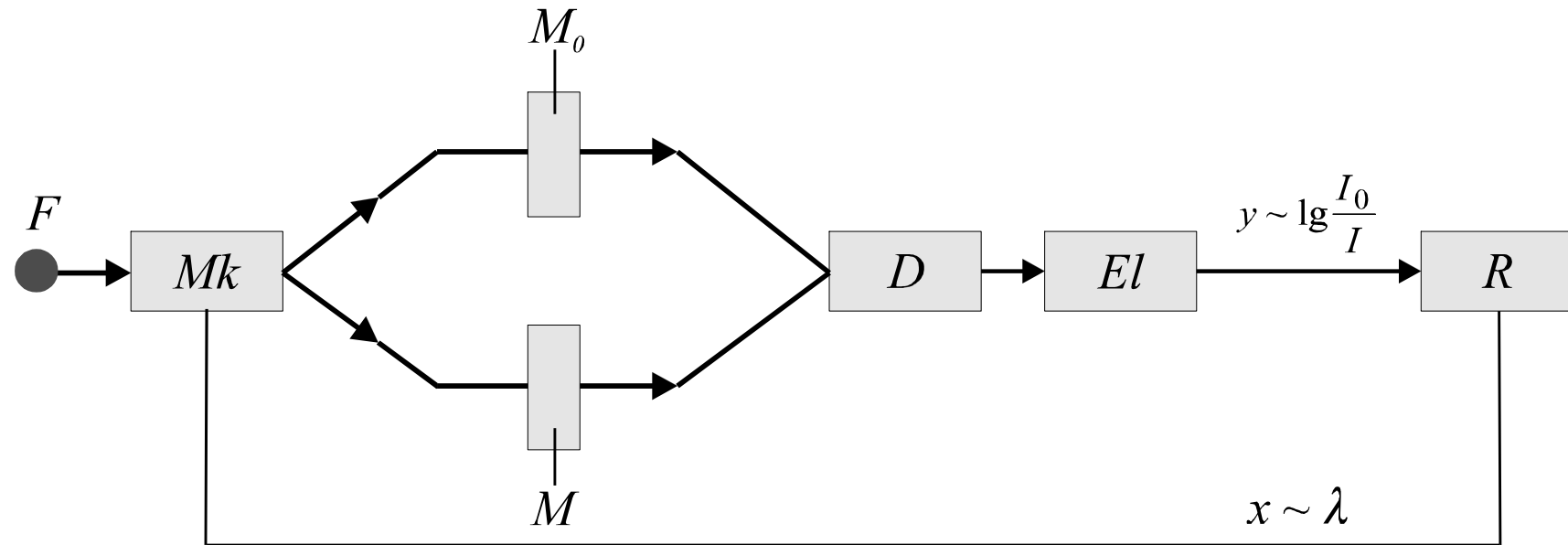
wie groß ist die Spitze:  
**quantitative Analyse**



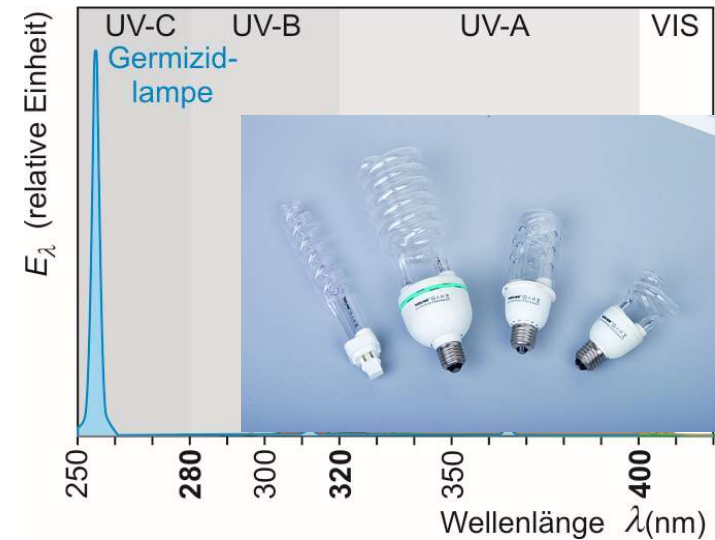
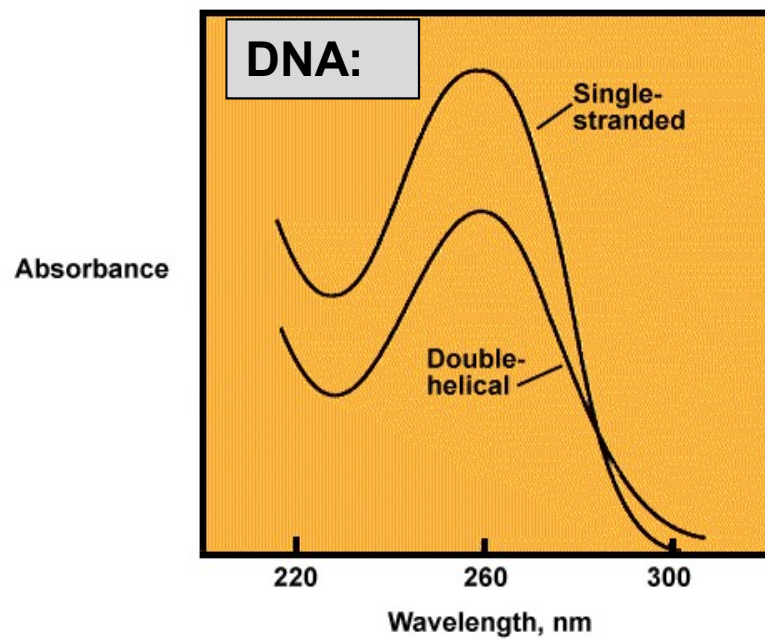
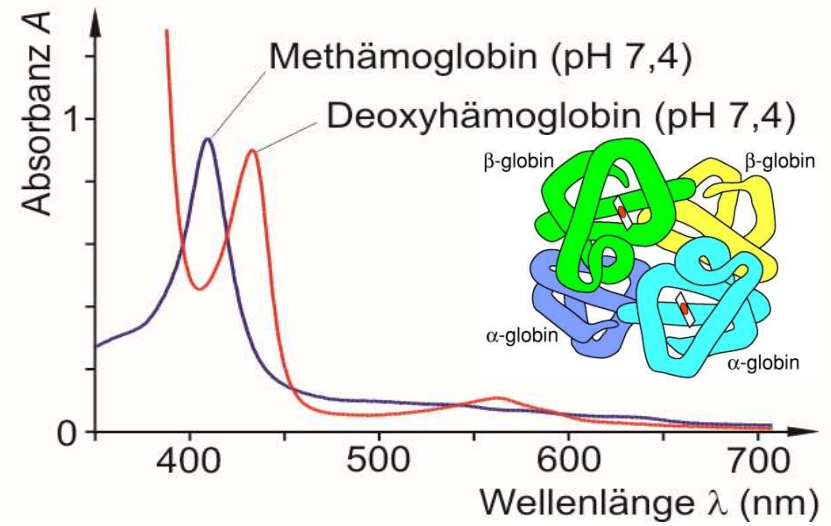
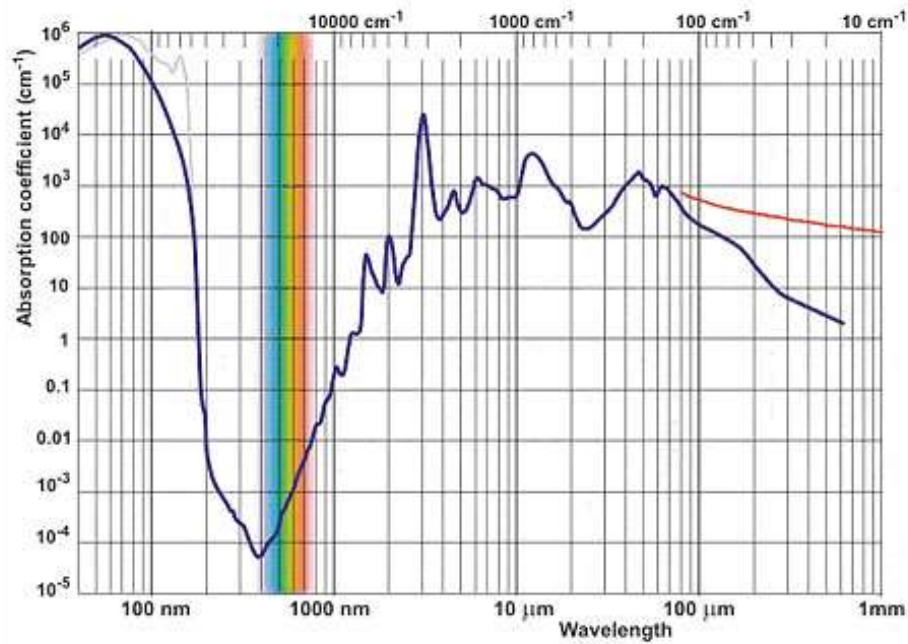
wo ist die Spitze: **qualitative Analyse**



# Das Messgerät: Absorptionsspektrophotometer



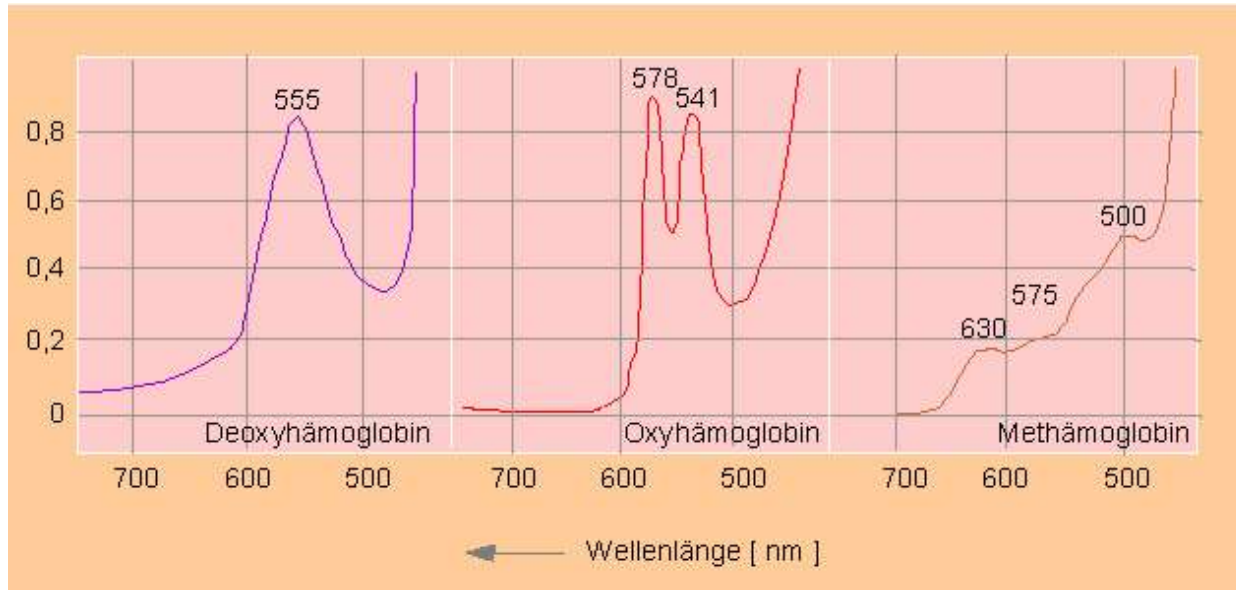
- $F$ : Lichtquelle (kontinuierliches Spektrum)
- $Mk$ : Monokromator (Aufspaltung des Spektrums der Lichtquelle und Auswahl der Wellenlänge zur Durchleuchtung der Probe)
- $M_0$ : Referenzlösung (z.B. Lösungsmittel)
- $M$ : die zu messende Lösung
- $D$ : Detektor (photoelektrische Umwandlung)
- $El$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





# Bestimmung des Sauerstoffgehaltes von Gewebe

A



## Charakterisation die Frische von Fleisch

Konz. von Deoxy und Oxy-Myoglobin

Konz. von NO-Myoglobin

...

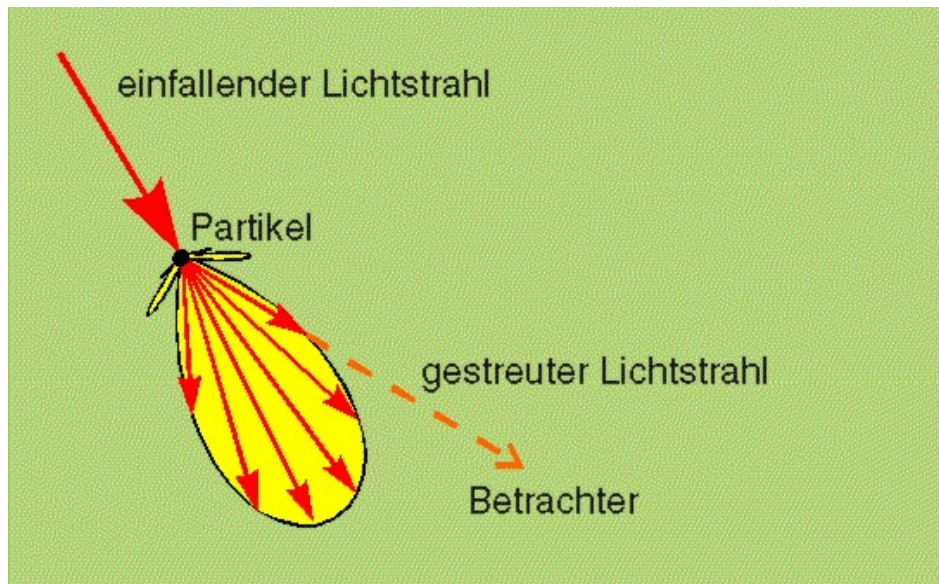


## Sterilisation

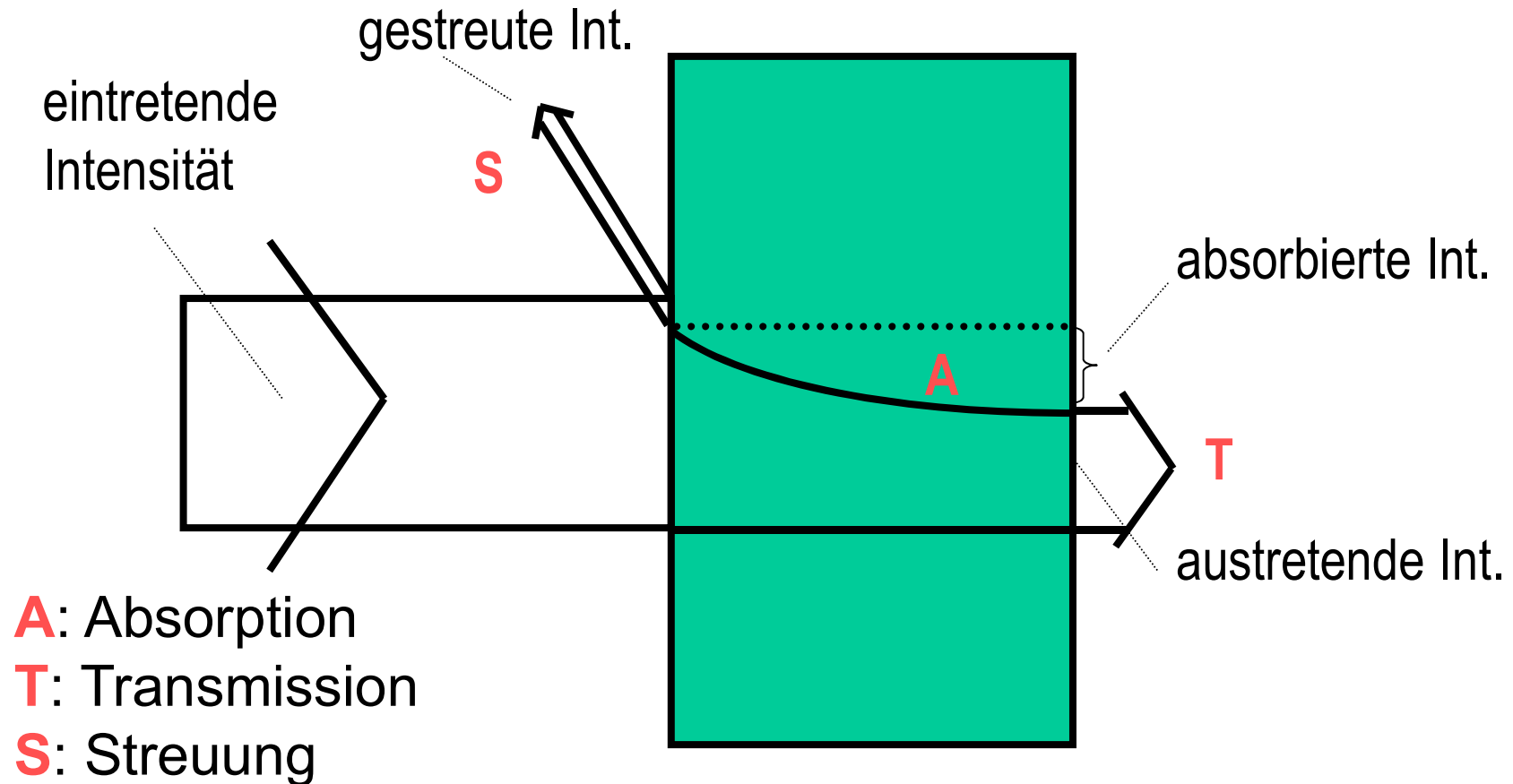
Germizidlampe emittiert  
wo die DNS absorbiert



# Lichtstreuung



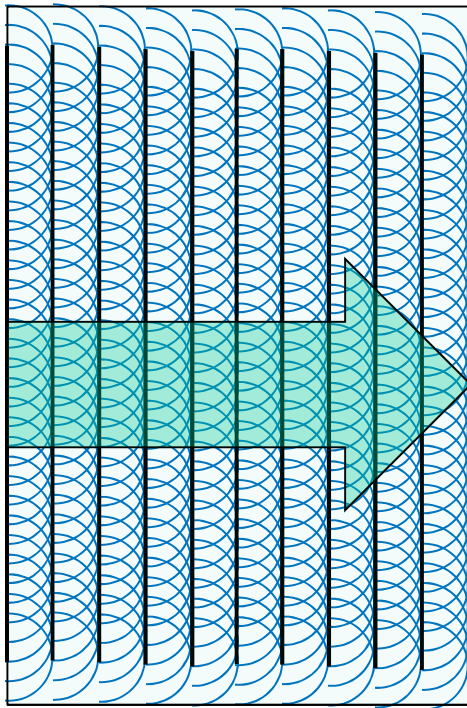
# Grunderscheinungen



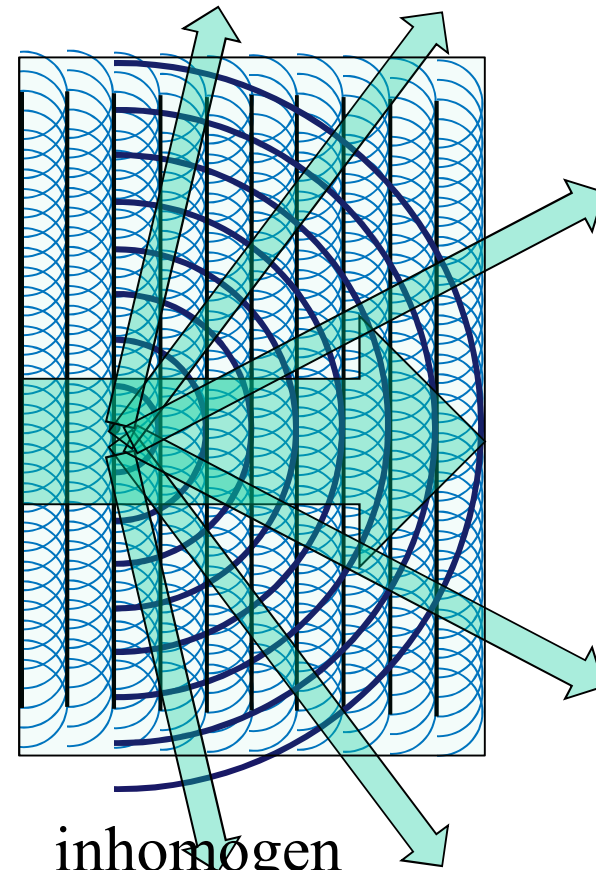
Lichtstreuung:

**Ablenkung des Lichtes** an kleinen Teilchen  
(Inhomogenitäten)

Huygens Fresnel Prinzip

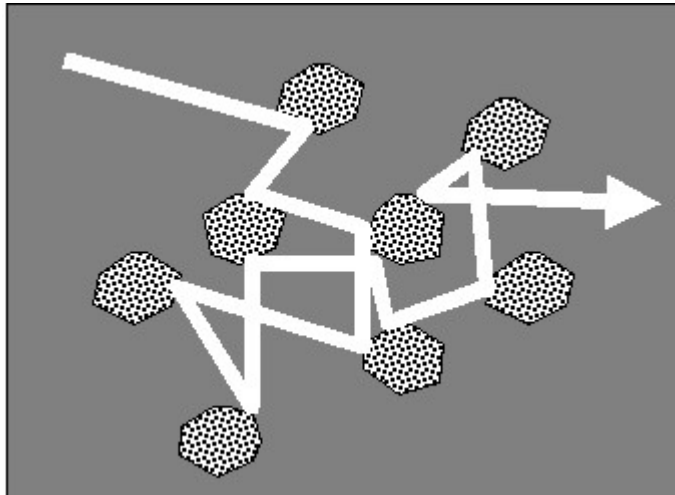


homogen



inhomogen

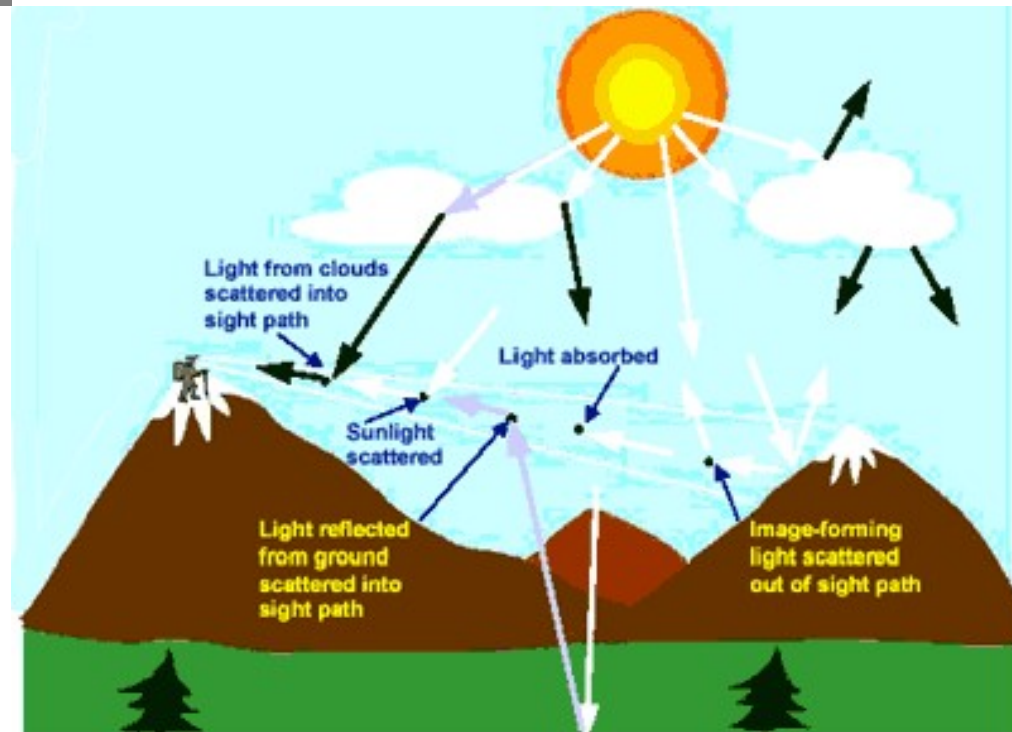




Lichtstreuung:  
**Ablenkung des Lichtes** an  
 kleinen Teilchen oder rauen  
 Oberflächen (Inhomogenitäten)

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

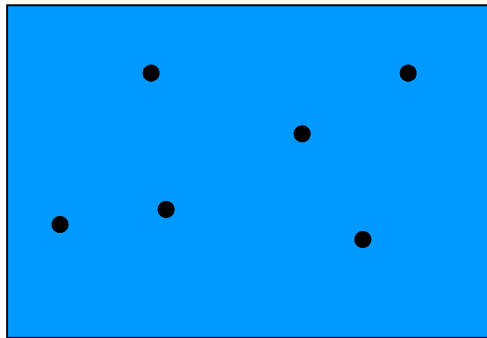
Durch Lichtstreuung  
 wird gerichtetes  
 Licht in **diffuses**  
**Licht** verwandelt.



# Inhomogenitäten

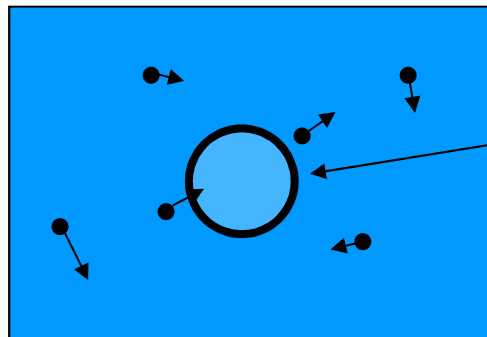
“in der Größenordnung der Wellenlänge des Lichtes”  
streuen Licht

**räumliche** Inhomogenitäten – **statische** Lichtstreuung



Teilchen in einer Lösung/Gas

**zeitliche** Inhomogenitäten/Fluktuationen – **dynamische**  
Lichtstreuung



Beobachtungsvolumen



## **elastische** Lichtstreuung

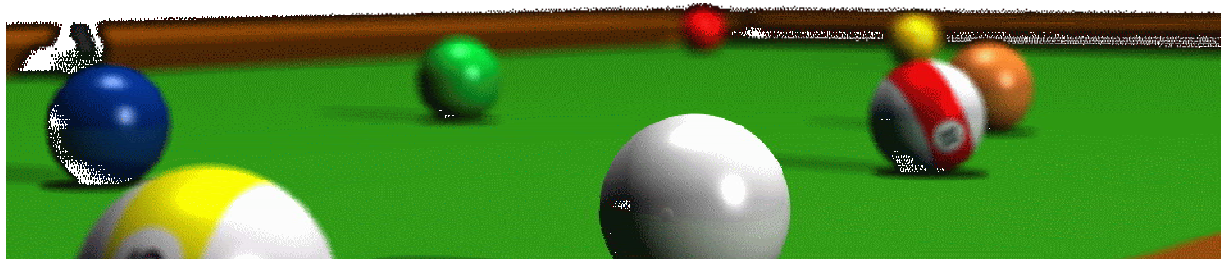
ohne Energieübertragung auf das Streuteilchen  
die Photonenenergie/Wellenlänge bleibt

**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 ( $1/\lambda^4$ )

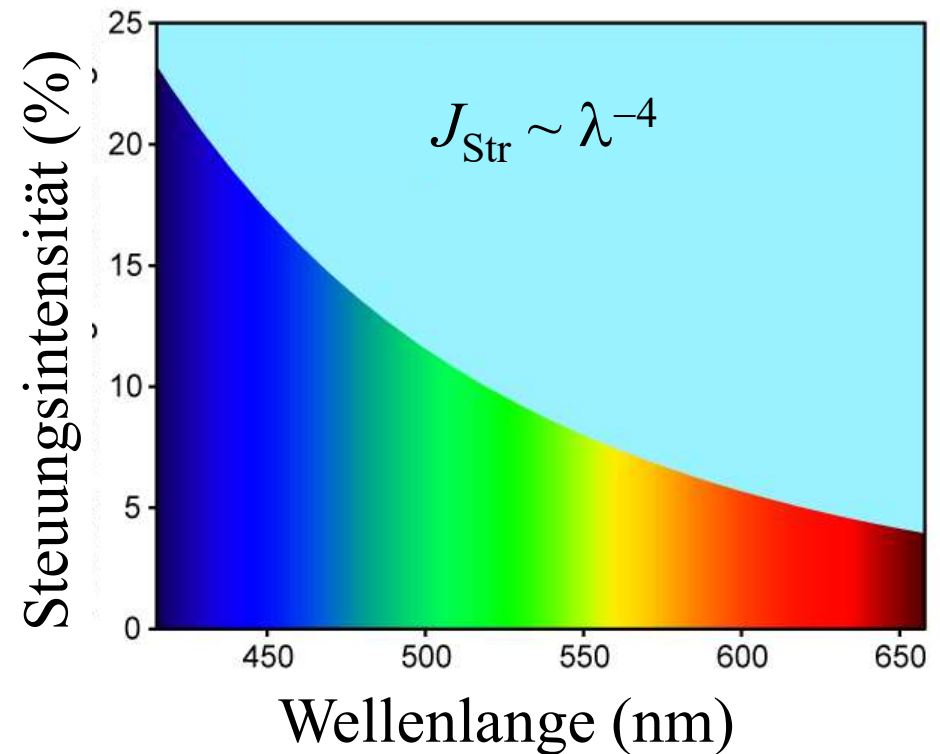
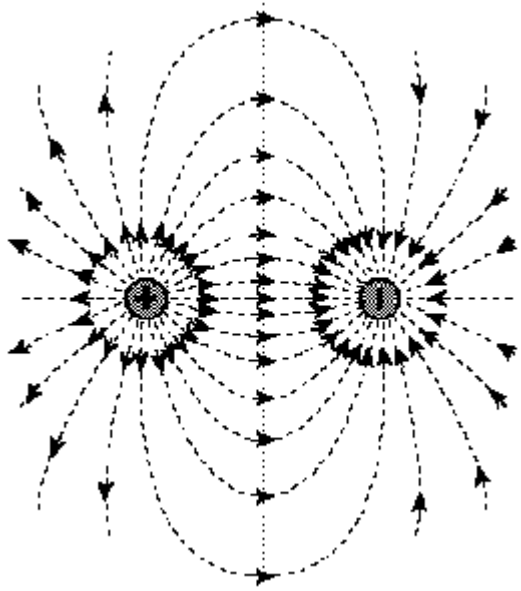
## Mie-Streuung

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

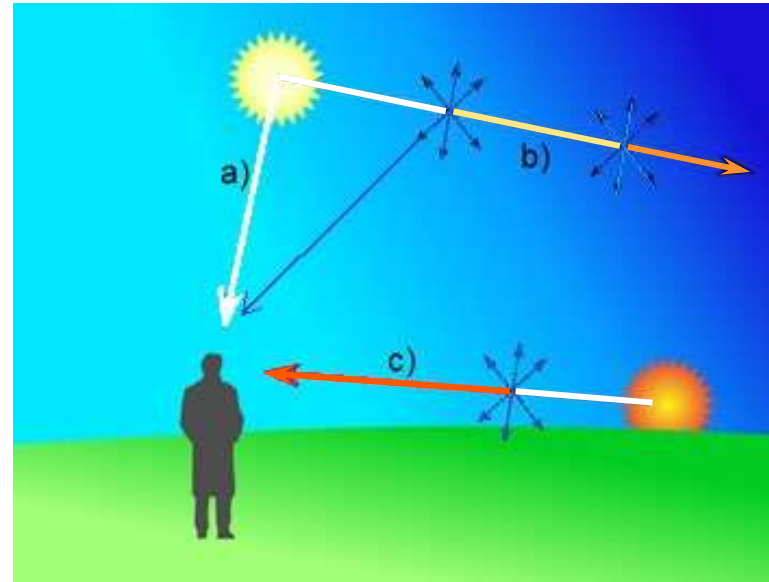


# Rayleigh-Streuung

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.

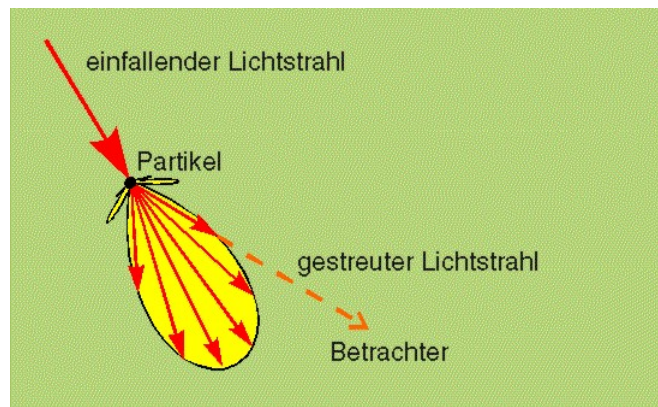


Diese Rayleigh-Streuung ist für den blauen Himmel und das rötliche Licht am Morgen und am Abend verantwortlich. Ist die Atmosphäre dichter, dann nimmt die Streuung zu.



# 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

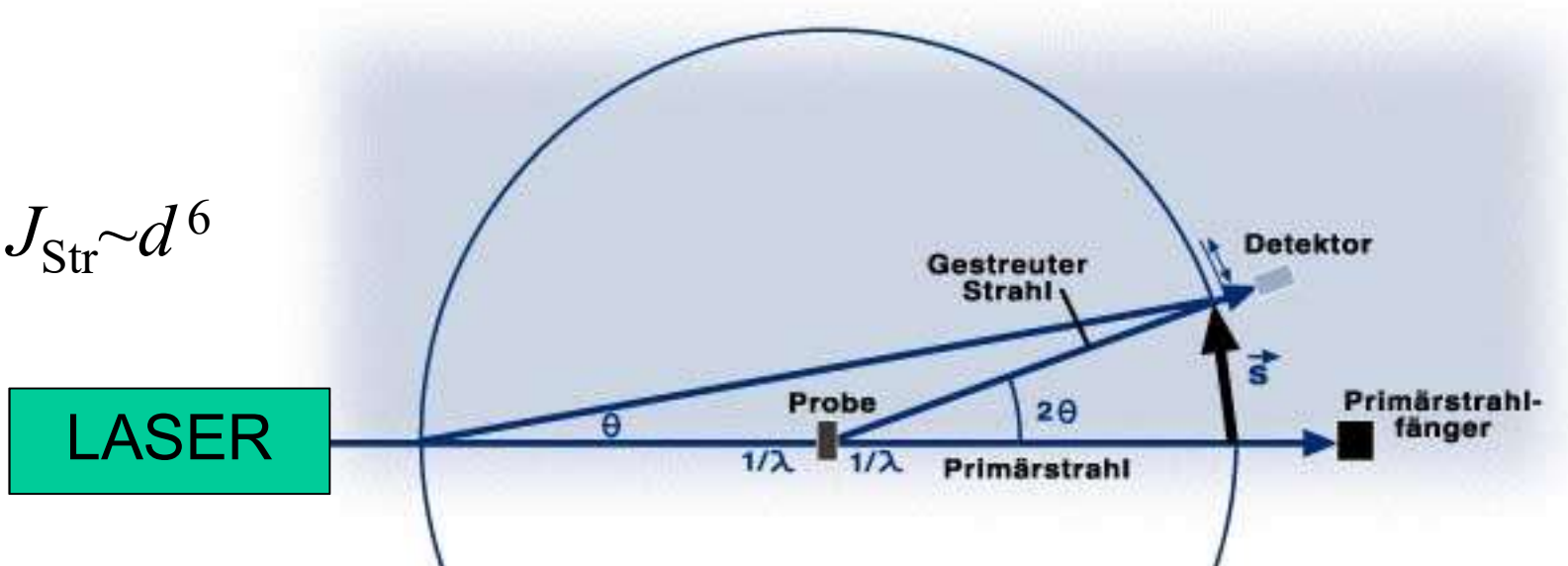
Die Streulichtintensität wird bei einem Winkel bestimmt.

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

Bestimmung von **Molmassen**



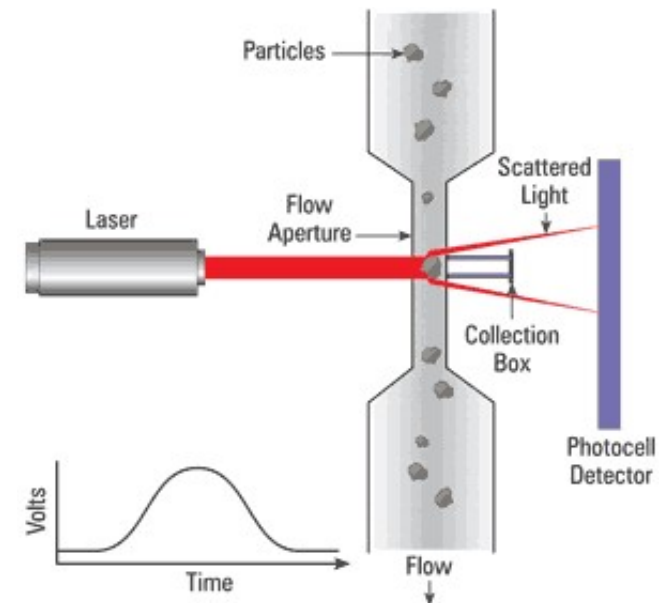
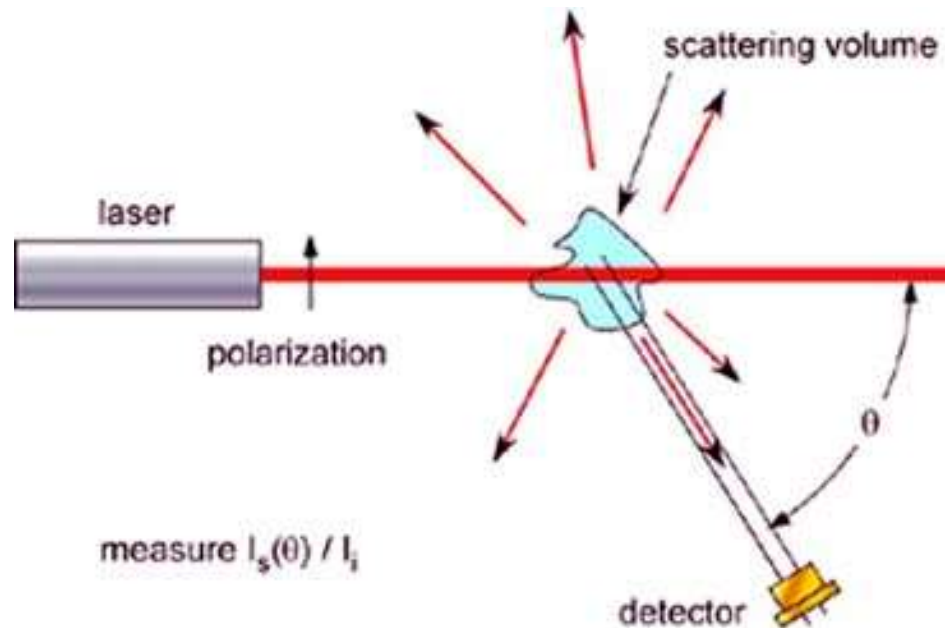
$$J_{\text{Str}} \sim d^6$$



# Statische Lichtstreuungsmessung

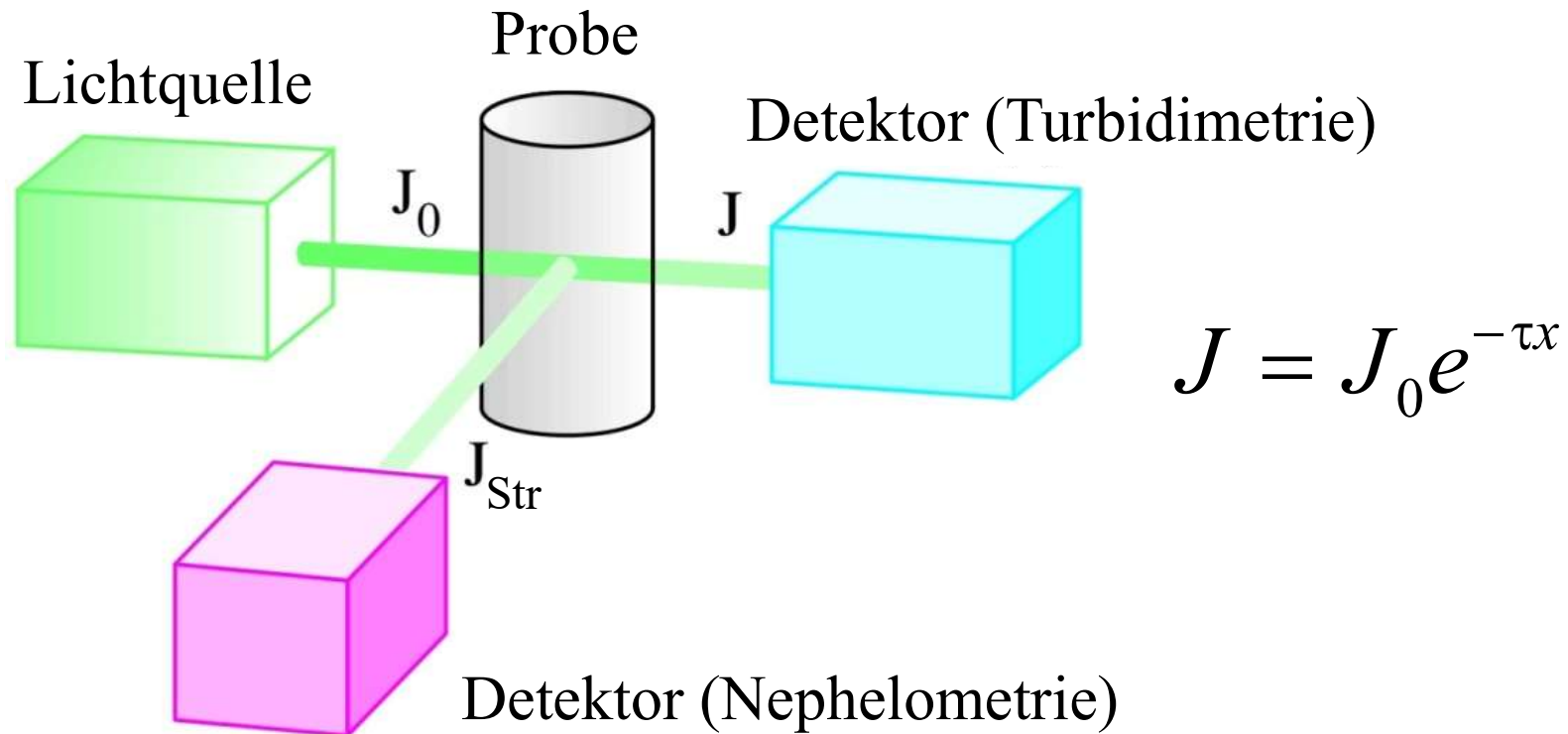
## Anwendung

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

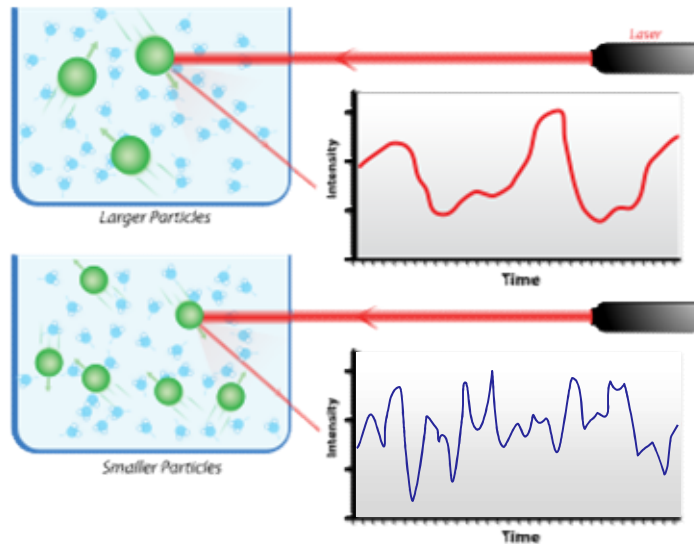


Teilchenzähler

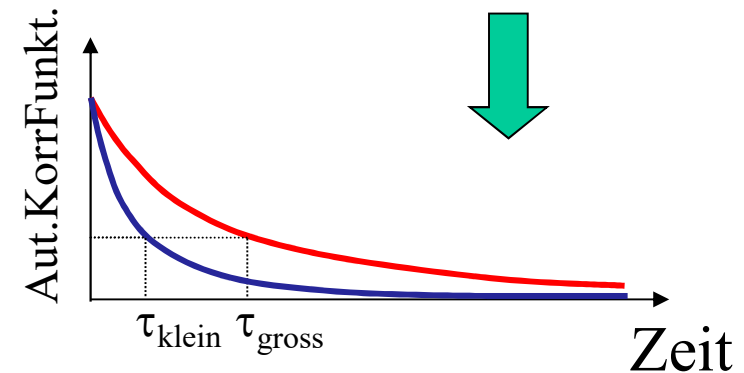
Messungsvariante bei statischer  
Lichtstreuungsmessung:  
Nephelometrie und Turbidimetrie (Trübung)



# Dynamische Lichtstreuung



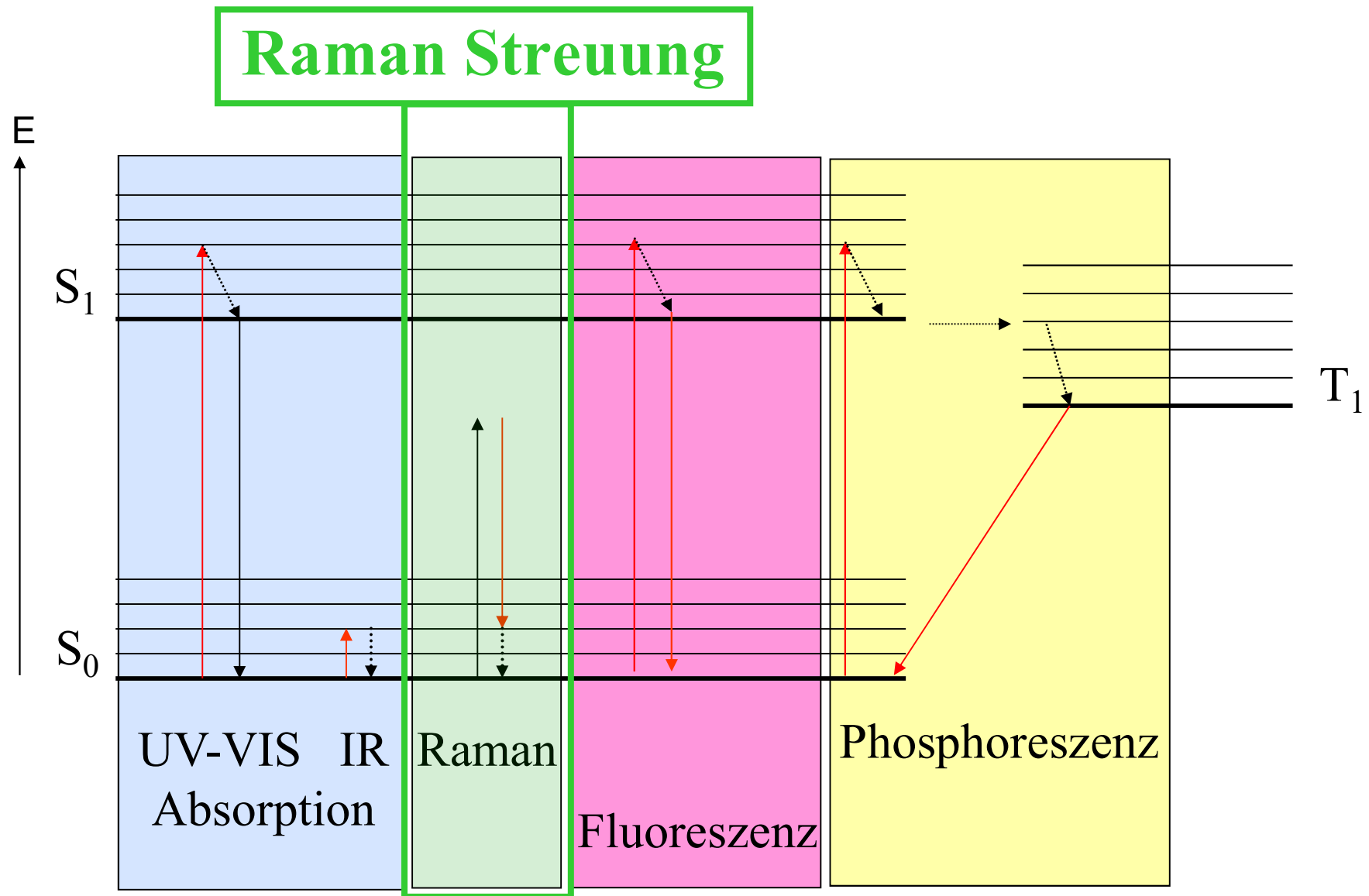
Fourier-Transformation → Auto-korrelationsfunktion



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





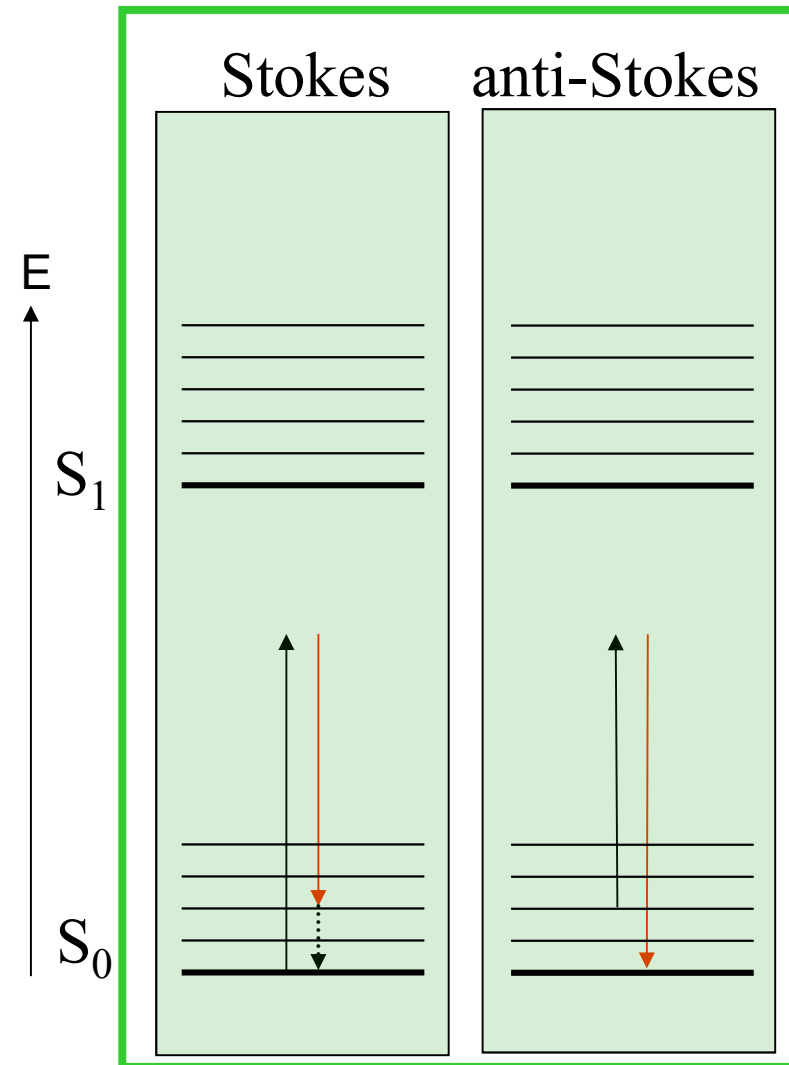
# Raman-Streuung



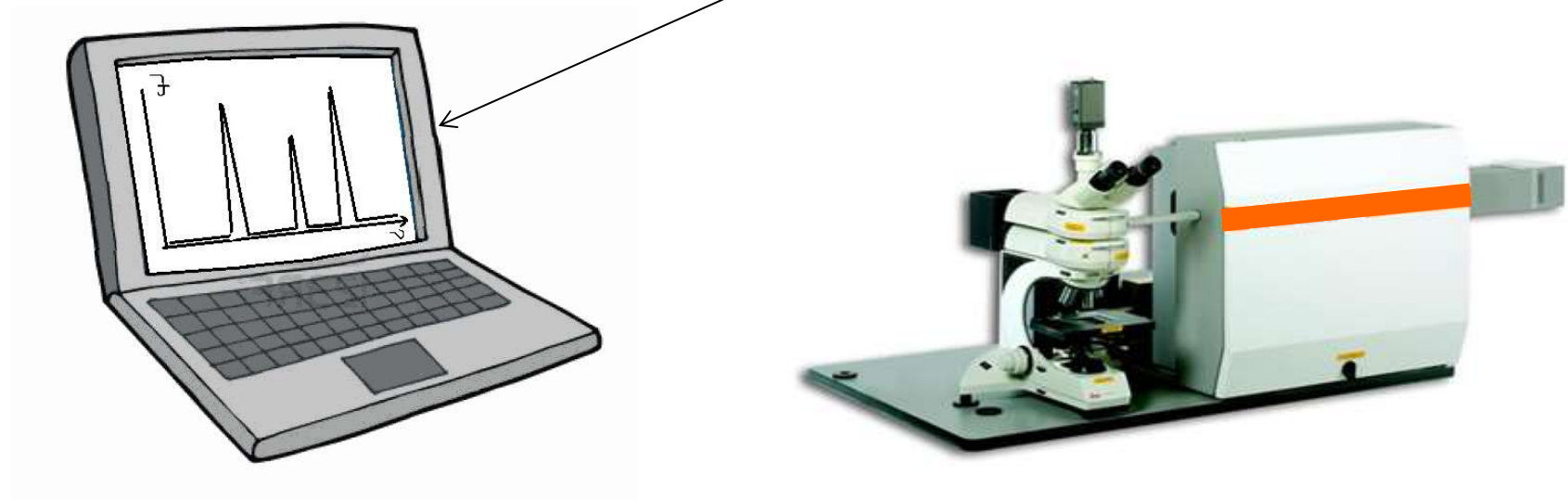
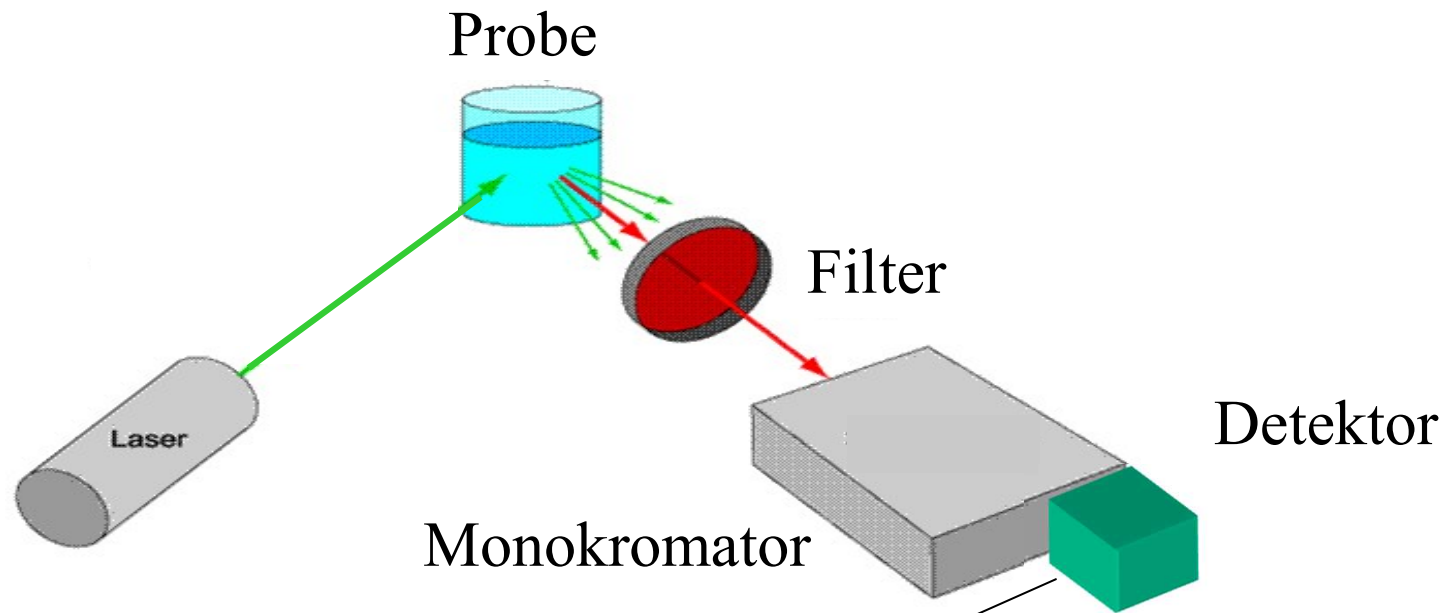
Bei der Raman-Streuung werden Moleküle in andere Vibrationszustand versetzt..

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



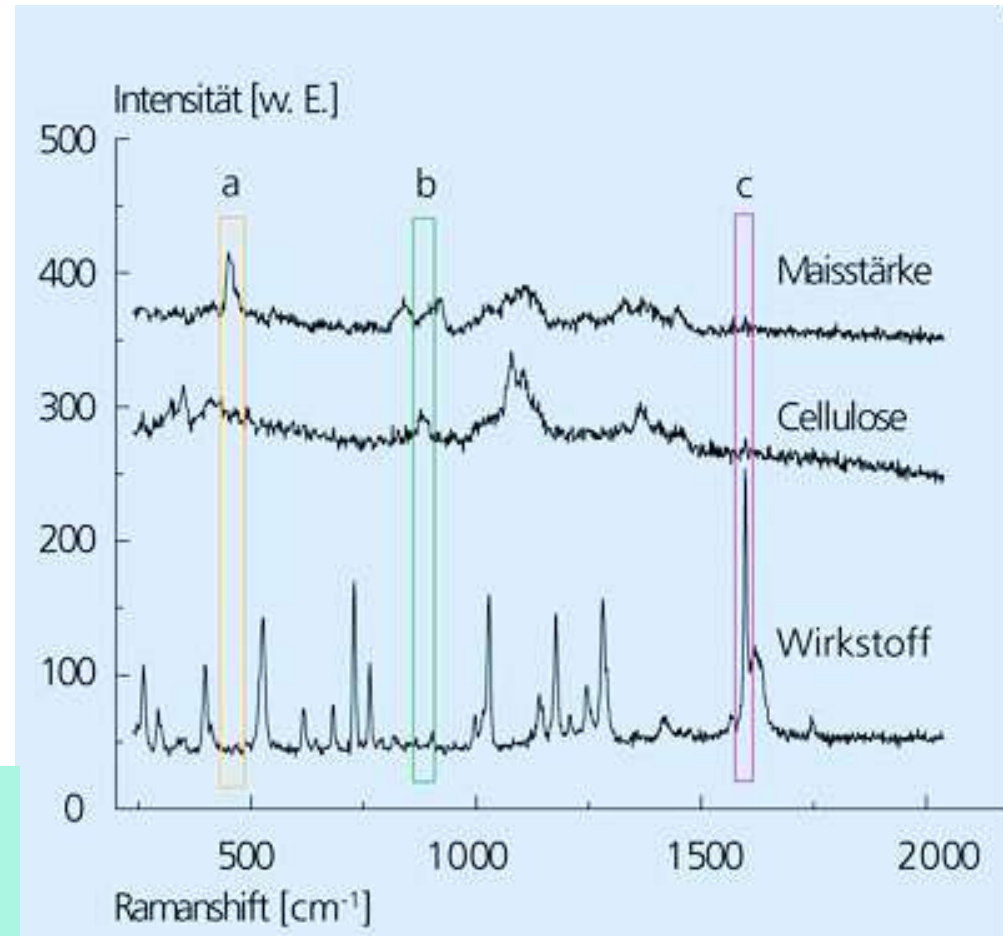
# Raman-Streuung

Vibrationszustände  
sind spezifisch für  
die Moleküle.



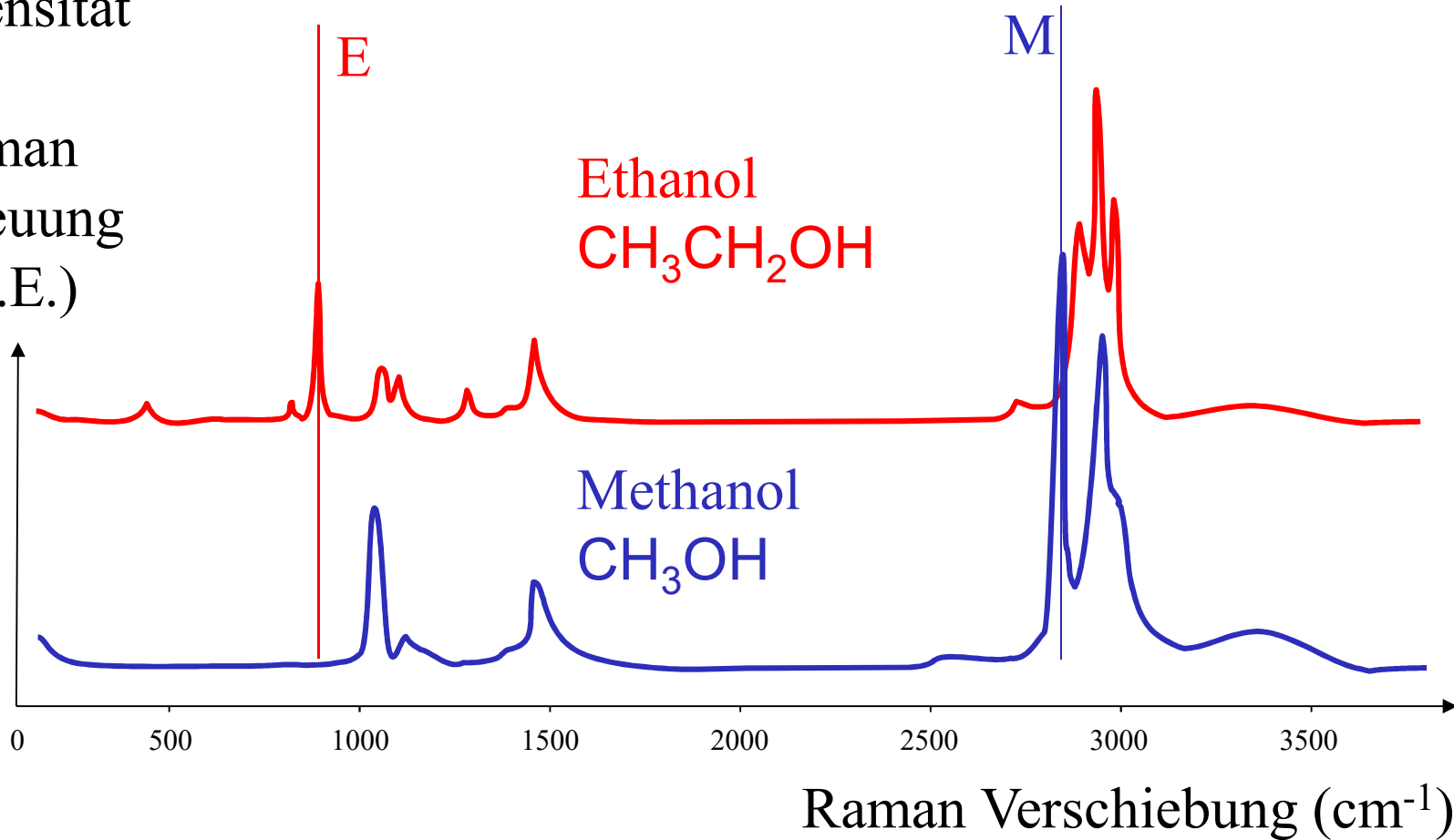
Raman  
Spektroskopie

Wirkstoffgehalt  
einer Tablette

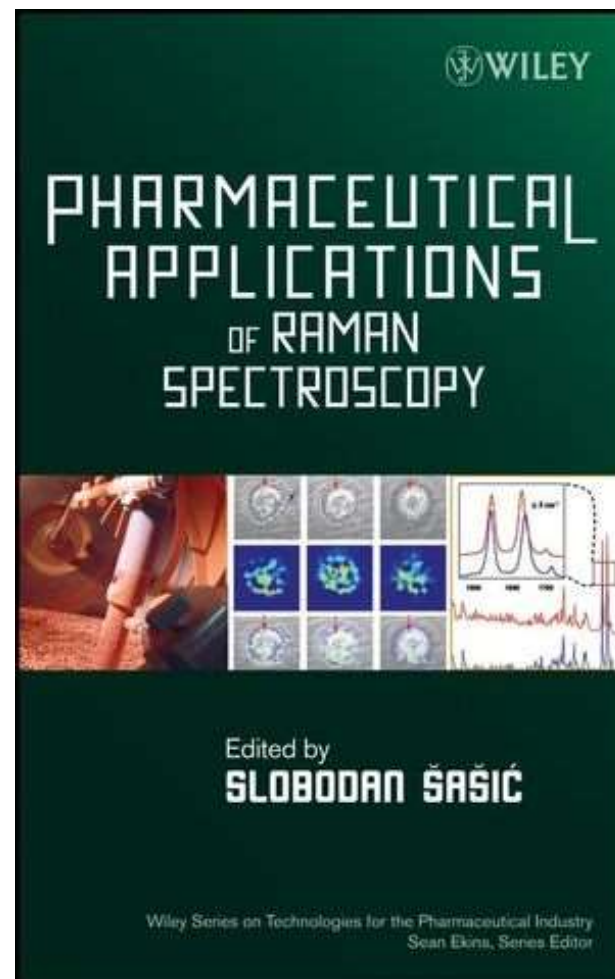
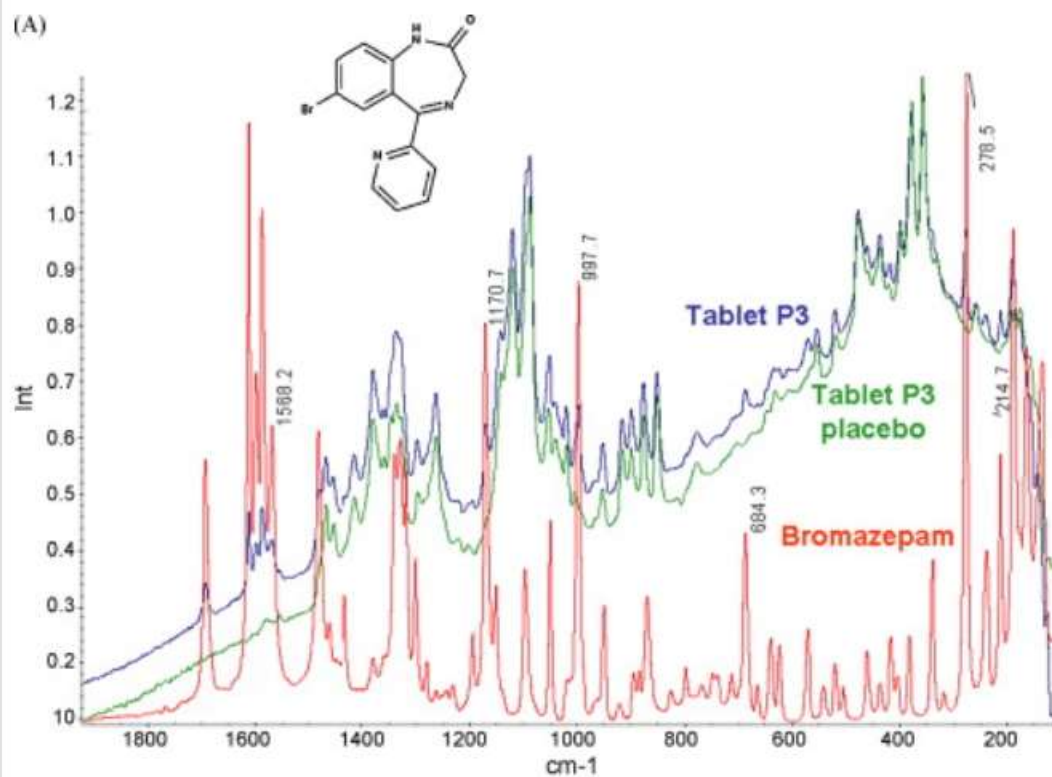
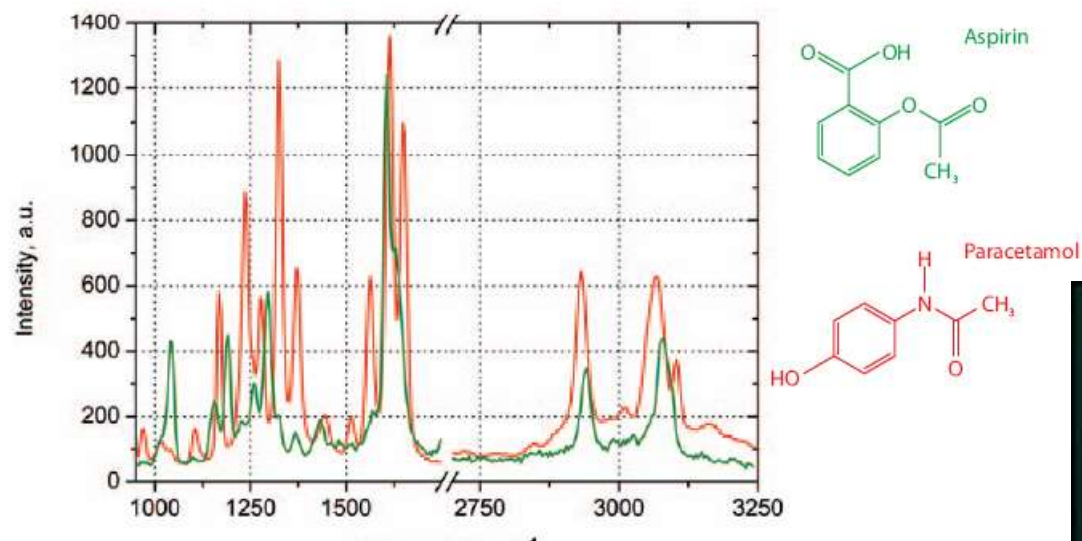


# Beispiele für Raman-Spektren

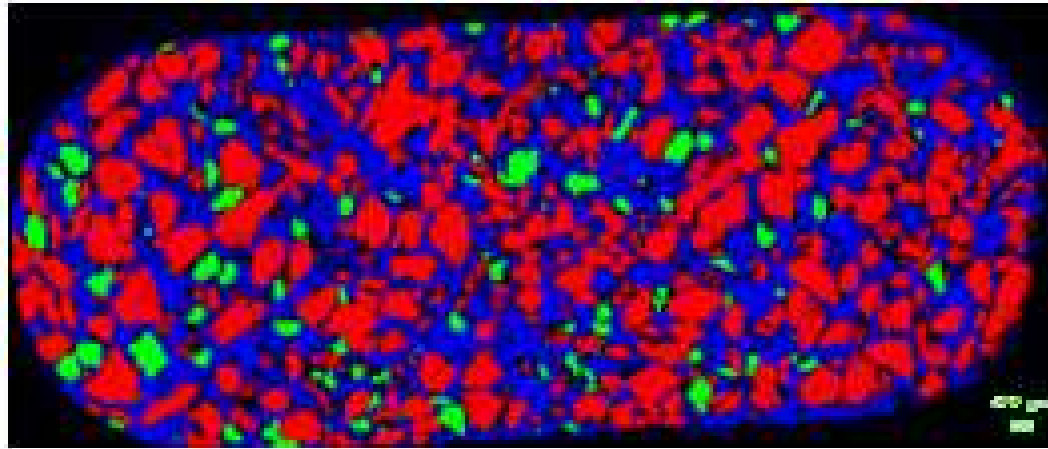
Intensität  
der  
Raman  
Streuung  
(rel.E.)



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

